



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**DUAS PERSPECTIVAS DA APRECIÇÃO DE RESISTÊNCIA À  
INFECÇÃO DE ESTRONGILIDOSE NOS EQUÍDEOS EM  
PORTUGAL: GARRANOS EM PASTOREIO E CAVALOS COM  
DOENÇAS ALÉRGICAS**

ANDREIA DA COSTA MEDEIROS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

ORIENTADORA:

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

VOGAIS:

Doutor Luís Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva  
Meireles  
Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

CO-ORIENTADOR:

Doutor Luís Madeira de Carvalho

2012

LISBOA

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**DUAS PERSPECTIVAS DA APRECIÇÃO DE RESISTÊNCIA À  
INFECÇÃO DE ESTRONGILIDOSE NOS EQUÍDEOS EM  
PORTUGAL: GARRANOS EM PASTOREIO E CAVALOS COM  
DOENÇAS ALÉRGICAS**

ANDREIA DA COSTA MEDEIROS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

ORIENTADORA:

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

VOGAIS:

Doutor Luís Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva  
Meireles  
Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

CO-ORIENTADOR:

Doutor Luís Madeira de Carvalho

2012

LISBOA

---

“ Pedras no caminho? Guardo-as todas, um dia vou construir um castelo.”

Fernando Pessoa

## **Agradecimentos**

O percurso que efectuámos durante estes seis anos de curso foi constituído por várias pessoas que me forneceram imensos conhecimentos e apoio.

Em primeiro lugar quero agradecer ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, da secção de Parasitologia e Patologia e Clínica das Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (SEPAR/FMV/UTL), por ter aceite ser meu co-orientador de estágio, pelo apoio prático em laboratório, pelo material cedido, pelos seus ensinamentos e pelo optimismo, boa disposição e confiança que me transmitiu durante todo esse processo.

Quero agradecer a Professora Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de Andrade Pimenta Tilley por ter aceite ser minha orientadora, e por me ter transmitido conhecimentos na área de clínica de Equídeos, bem como me ter fornecido um dos temas da minha tese.

Quero agradecer ao Instituto Superior de Agronomia, ao núcleo de funcionários do Parque Nacional da Peneda do Gerês e aos proprietários dos equídeos com doenças do foro alérgico pelo apoio fornecido aquando da colheita das amostras fecais. Relativamente ao Instituto Superior de Agronomia, quero agradecer à Professora Ana Falcão e ao Engenheiro Bruno por toda a disponibilidade e auxílio que me forneceram durante todo o processo de recolha e, ao Professor Doutor Manuel Armando Valeriano Madeira pelos conhecimentos transmitidos sobre os solos da região do Gerês e do próprio ISA.

Agradeço ao Dr. Nuno Santos pela disponibilidade e conhecimentos transmitidos durante a minha estadia no Gerês, bem como, a todos os funcionários do Parque Nacional da Peneda do Gerês, em especial ao assistente operacional António Rebelo cujo conhecimento sobre a Serra foi fulcral para a colheita das fezes dos garranos

Um especial agradecimento à Dra. Lúcia Nabais e ao Dr. David Ramilo por todo o apoio, conhecimento e boa disposição que me transmitiram durante o tempo que passei no laboratório de Doenças Parasitárias da FMV/UTL. A todos os meus colegas de laboratório, um obrigado.

Ao Dr. Telmo Nunes pela incansável paciência e boa disposição que demonstrou durante a realização da parte estatística desse trabalho.

A todos os professores que durante estes seis anos de curso nos transmitiram os seus conhecimentos e permitiram que pudesse assimilar conhecimentos sobre uma das mais bonitas profissões do mundo.

Aos meus amigos e colegas de casa, Patrícia Figueiredo cuja presença durante esses seis anos de curso foi imprescindível. Ao Paulo Rodrigues, Gonçalo Frouco, Rui Vidal, Tiago Viveiros e em especial ao João Vasconcelos cuja presença foi muito importante. Ao Alex Lourenço que fez parte da minha vida durante 5 anos e que me fez sorrir várias vezes. A todos aos meus outros amigos, que sabem quem são, um grande obrigado.

E como os últimos são sem dúvida os primeiros, quero agradecer à minha família, pai, irmã e mãe. Há que salientar sem dúvida a minha querida e amada mãe, cuja força e determinação fazem que seja uma mulher admirável e que eu muito amo. Um grande obrigado a ela. Esta tese é sem dúvida para ti!

## **Resumo-Duas perspectivas da apreciação de resistência à infecção de estrongilidose nos equídeos em Portugal: garranos em pastoreio e cavalos com doenças alérgicas**

As resistências às doenças parasitárias nos equídeos é um tema que suscita grande interesse na sociedade científica. A resistência aos helmintes gastrintestinais aumenta quando os equídeos envelhecem. Todavia, a presença de hipersensibilidades alérgicas também pode ser considerada um factor que promove uma diminuição da estrongilidose.

O primeiro subtema do presente estudo baseou-se na epidemiologia da estrongilidose de garranos em pastoreio, no Instituto Superior de Agronomia de Lisboa (ISA) e no Parque Nacional da Peneda do Gerês (PNPG), focando as condições geoclimáticas e as características individuais. Nos garranos do ISA, durante os 6 meses do estudo, foi colhido um total de 42 amostras. As larvas do género *Cyathostomum* A foram as mais prevalentes (97,6%) e abundantes (61,6%), seguindo-se as do género *Cyathostomum* D com prevalência e abundância respectivamente, 52,4% e 18,4%. Para os garranos do PNPG, durante os 2 meses do estudo, colheram-se 39 amostras. As larvas com maior prevalência e abundância foram igualmente as do género *Cyathostomum* A e D. As larvas de *Strongylus vulgaris* foram mais prevalentes (71,4%) e abundantes (11,6%) para os garranos do ISA.

O segundo subtema focou-se na presença ou ausência de hipersensibilidade e o tipo de hipersensibilidade, abrangendo 43 animais divididos por estes três grupos. A finalidade foi averiguar se situações de hipersensibilidade alérgica podem ou não promover diminuição da carga helmíntica. Portanto, comparou-se a média do logaritmo de OPG de estrongilídeos dos três grupos de equídeos obtendo: 0,9 OPG para o grupo B1 com ORVA e Dermatite atópica ( $n=14$ ), 2,1 OPG para o grupo A sem sintomatologia alérgica ( $n=19$ ) e 3,3 OPG para o grupo B2 com Hipersensibilidade à picada de insectos ( $n=10$ ). Relativamente ao grau de infecção, 75% dos equídeos do grupo B1 apresentaram valores de OPG compatível com uma infecção fraca ( $<450$  OPG), seguindo o grupo A e o grupo B2 com respectivamente, 25% e 0%. Para valores superiores 1000 OPG ou infecção grave, o grupo A apresentou 54,5%, seguindo-se o grupo B2 e B1 com respectivamente, 36,4% e 9,1% das amostras.

Os resultados obtidos demonstram que equídeos mais velhos e equídeos com hipersensibilidade do tipo I tendem a ter uma menor carga parasitária. Isto promove uma menor necessidade de desparasitação.

**Palavras-chave:** resistências parasitárias; hipersensibilidades alérgicas; epidemiologia; estrongilidose; infecção fraca; infecção grave.

**Abstract-Two perspectives of the assessment of resistance to strongylosis infection in Portugal's horses: garranos grazing and horses with allergic diseases.**

The resistance to parasitic diseases in horses is a topic with high interest in the scientific society. The resistance to gastrointestinal helminths increases when the horses get older. However, the presence of allergic hypersensitivities can also be considered as a factor which promotes a reduction in strongylosis.

The first subtheme of the present study was based on the epidemiology of strongylosis of garranos grazing, in the Institute of Agronomy in Lisbon (ISA) and the National Park of Gerês (PNPG), focusing on the ecological conditions and individual characteristics. In ISA's garranos during the six months of the study, a total of 42 faecal samples were collected. *Cyathostomum* A larvae were the most prevalent (97,6%) and abundant (61,6%), followed by *Cyathostomum* D with the prevalence and abundance respectively, 52,4% and 18,4%. For the PNPG's garranos, during the two months of the study, 39 samples were recorded. Larvae with higher prevalence and abundance belonged also to genera *Cyathostomum* A and D. The larvae of *Strongylus vulgaris* were more prevalent (71,4%) and abundant (11,6%) for ISA's garranos.

The second subtheme focused on the study of 43 animals which were split into three groups in the presence or absence of hypersensitivity, and hypersensitivity type. The purpose was to determine whether cases of allergic hypersensitivity may or may not promote a decrease in helminth burden. Therefore, the average of EPG logarithm of these three groups of horses, was compared and the following values were obtained: 0,9 EPG for Group B1 and ORVA with atopic dermatitis ( $n=14$ ), 2,1 EPG for group A with no allergic symptoms ( $n=19$ ) and 3,3 EPG to group B2 with Hypersensitivity to insect bites ( $n=10$ ). Regarding the degree of infection, 75% equine of B1 had EPG values compatible with low infection ( $<450$  EPG), following group A and group B2 with respectively, 25% and 0%. For values higher than 1000 EPG or severe infection, group A showed 54,5%, followed by group B2 and B1 with respectively, 36,4% and 9,1% of samples.

The results show that older horses and horses with hypersensitivity type I tend to have a lower parasite load. This promotes a reduced need for deworming.

**Keywords:** parasitic resistances; allergic hypersensitivities; epidemiology; strongylosis; low infection, severe infection.



## Índice Geral

1. Actividades desenvolvidas durante o estágio curricular .....	1
1.1. Hospital Escolar Veterinário-Faculdade de Medicina Veterinária .....	1
1.1.1. Equídeos .....	1
1.1.2. Estadia no PNPG .....	2
1.2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (FMV-UTL) .....	2

## Capítulo I. Introdução .....

3

1.1. Perspectiva histórica do cavalo .....	3
1.2. Raça Garrana .....	3
1.2.1. Características .....	4
1.2.2. Distribuição .....	4
1.2.3. Adaptação .....	4
1.2.4. Utilização .....	5

## Capítulo II. Revisão Bibliográfica .....

6

1.1. Parasitas gastrointestinais .....	6
1.2. Classe Nematoda .....	6
1.3. Sistemática e Taxonomia dos Estrongilídeos .....	6
1.3.1. Ciclo biológico .....	7
1.3.1.1. Ciclo Biológico Exógeno .....	8
1.3.1.1.1. Desenvolvimento embrionário até L3 .....	8
1.3.1.1.2. Desenvolvimento das L3 .....	9
1.3.1.1.3. Distribuição das L3 na pastagem .....	10
1.3.1.1.4. Movimento das L3 na pastagem .....	11
1.3.1.2. Ciclo Biológico Endógeno .....	11
2. Características dos Grandes Estrongilídeos .....	11
2.1. Género <i>Strongylus</i> .....	12
2.1.1 <i>Strongylus vulgaris</i> .....	12
2.1.1.1 Morfologia e identificação .....	12
2.1.1.2. Ciclo biológico endógeno .....	12
2.1.1.3. Sintomatologia .....	13
2.1.2. <i>Strongylus equinus</i> .....	14

2.1.2.1 Morfologia e identificação .....	14
2.1.2.2. Ciclo biológico endógeno.....	14
2.1.2.3. Sintomatologia/ Patogenia.....	14
2.1.3. <i>Strongylus edentatus</i> .....	15
2.1.3.1. Morfologia e identificação .....	15
2.1.3.2. Ciclo biológico endógeno.....	15
2.1.3.3. Sintomatologia/ Patogenia.....	15
2.2 Género <i>Triodontophorus</i> .....	16
2.2.1. Morfologia e identificação .....	16
2.2.2. Ciclo biológico endógeno.....	16
2.2.3. Sintomatologia/ Patogenia.....	16
2.2.4. Epidemiologia .....	17
3.Subfamília Cyathostominae .....	17
3.1. Morfologia e identificação .....	17
3.2. Ciclo biológico endógeno.....	18
3.3 Sintomatologia/ Patogenia .....	19
3.4. Diagnóstico.....	20
3.5. Epidemiologia .....	20
<b>4. Desparasitação .....</b>	<b>21</b>
4.1. Formas de controlo parasitário .....	21
4.1.1. Anti-helmínticos.....	21
4.1.2. Estratégia de Administração de anti-helmínticos.....	21
4.1.3. Tratamento anti-helmíntico para ciatostomíneos .....	22
4.1.4. Tratamento anti-helmíntico para <i>Strongylus vulgaris</i> .....	23
4.1.5 Cuidados a ter após a desparasitação .....	24
4.1.6. Controlo antiparasitário para além dos anti-helmínticos.....	24
<b>5. Doenças alérgicas.....</b>	<b>25</b>
5.1.Definição de Alergia .....	25
5.2.ORVA.....	26
5.2.1. Definição ORVA.....	26
5.2.2. Etiologia .....	26

5.2.3. Epidemiologia .....	26
5.2.4. Sinais clínicos.....	27
5.2.5. Diagnóstico.....	27
5.2.6. Terapêutica, controle e prevenção.....	27
5.2.1 Controle ambiental .....	27
5.6.2 Ventilação.....	28
5.6.3 Camas .....	28
5.6.4 Forragem .....	28
5.6.5 Armazenamento .....	28
5.6.6 Medicação .....	29
5.6.6.1 Corticosteróides.....	29
5.6.6.2 Broncodilatadores.....	29
5.3. Dermatite atópica .....	29
5.3 Etiologia .....	29
5.4. Sinais clínicos.....	29
3.5. Diagnóstico.....	30
3.6. Tratamento .....	31
4. Hipersensibilidade à picada de insectos .....	32
4.1. Etiologia .....	32
4.2. Sinais clínicos.....	33
4.3. Prevalência .....	33
4.4. Diagnóstico.....	34
4.5.Tratamento .....	34
<b>6. Resistência à infecção parasitária .....</b>	<b>34</b>
6.1. Resistência natural.....	35
6.2. Resistência a anti-helmínticos .....	36
6.3. Resistência por alergias.....	37
6.4. Formas de contrariar a resistência parasitária .....	38
<b>8. Objectivos do estudo .....</b>	<b>39</b>
8.1. Garranos .....	40
8.1. Equídeos com Hipersensibilidade alérgica e respectivos controlos .....	40

<b>Capítulo III - Material e Métodos</b> .....	40
1.1 Garranos .....	40
1.1.1. População alvo .....	40
1.1.1.1. Caracterização do núcleo de garranos do Gerês.....	40
1.1.1.2. Caracterização do núcleo de garranos do Instituto Superior de Agronomia (ISA).....	41
1.2. Local de estudo e caracterização do mesmo .....	41
1.2.1. PNPG (Parque Nacional da Peneda do Gerês).....	41
1.2.1.1. Localização e Limites.....	41
1.2.1.2. Geologia e Geomorfologia .....	42
1.2.1.3. Relevo.....	42
1.2.1.4. Caracterização climatológica .....	43
1.3.2. Instituto Superior de Agronomia (ISA).....	45
1.3.2.1. Localização e Limites.....	45
1.3.2.2. Geologia e Geomorfologia .....	45
1.3.2.3. Relevo.....	46
1.4. Equídeos com doença alérgica/ controlos .....	49
1.4.2. Desparasitação e Vacinação .....	49
1.4.3. Raça e Sexo .....	50
1.4.4. Características dos equídeos na Coudelaria de Pegões .....	50
2. Método de colheita das amostras e número das mesmas. ....	52
2.1. Garranos do Gerês .....	52
2.2. Garranos do ISA.....	53
3. Métodos e técnicas laboratoriais .....	53
3.1. Coprológicos .....	53
3.1.1. Método quantitativo .....	53
3.1.1.1. Método de contagem de ovos de McMaster.....	54
3.1.2. Método qualitativo .....	52
3.1.2.1 Método de flutuação pela técnica de Willis .....	55
3.1.2.2. Sedimentação .....	55
3.2. Diagnóstico por coprocultura .....	56
3.2.1. Método de ROBERTS & O’SULLIVAN .....	56
3.3. Métodos de concentração das larvas de nematódes através do Aparelho de Baermann .....	57

3.4. Biópsia.....	58
3.5.Exame histopatológico .....	58
3.6. Análise estatística.....	59
3.8. Rendimento das coproculturas .....	59

### **Capítulo III - Resultados ..... 60**

1. Garranos .....	60
1.1. Garranos do ISA.....	60
1.2 Garranos do Gerês .....	65
1.3. Comparação entre os garranos do Gerês e do ISA.....	69
2. Alergias e grupos controlos.....	71
2.1. Biópsia e exame histopatológico.....	71
2.1. Pesquisa de larvas pulmonares no Aparelho de Baerman.....	72

### **Capítulo IV..... 76**

1.Discussão de resultados.....	76
2.Limitações do estudo.....	85

### **Capítulo V ..... 86**

<b>1. Conclusão .....</b>	<b>86</b>
---------------------------	-----------

### **Bibliografia ..... 89**

<b>Anexo A:</b> Fotografias originais de L3 (Ampliação 100x) .....	109
--	-----

<b>Anexo B:</b> Fotografias de Garranos nas zonas de pastoreio no Gerês e salamandra .....	111
--	-----

<b>Anexo C:</b> Equídeos com sinais clínicos de dermatite atópica, ORVA e Hipersensibilidade à picada de insectos .....	112
---	-----

<b>Anexo D:</b> Fotos originais de mosquitos de <i>Culicoides nubeculosus</i> e <i>Culicoides puncticollis</i> .....	113
--	-----

### **Índice de Figuras**

<b>Figura 1-</b> Garranos do PNPG .....	3
<b>Figura 2-</b> Ciclo biológico dos strongilídeos .....	8
<b>Figura 3-</b> Garranos do ISA (original) .....	41

<b>Figura 4-</b> Localização do ISA (Google Maps) .....	45
<b>Figura 5-</b> Colheita de fezes no Gerês (original).....	52
<b>Figura 6-</b> Câmaras de McMasters (original) .....	54
<b>Figura 7-</b> Ovos de strongilídeos ampliação 50x (original).....	54
<b>Figura 8-</b> Tubos com conteúdo fecal para Método de flutuação pela Técnica de Willis (original) .....	55
<b>Figura 9-</b> Ovos de strongilídeos, ampliação 50x (original) .....	55
<b>Figura 10-</b> Técnica de Sedimentação com ovos de EGI com ampliação 100x (original).....	55
<b>Figura 11-</b> Preparação das coproculturas (original) .....	56
<b>Figura 12-</b> Coproculturas na estufa <i>ISCO®</i> (originais).....	56
<b>Figura 13-</b> Aparelho de Baerman com fezes .....	57
<b>Figura 14-</b> Biopsia com biótomo (retirada do <i>Practical Equine Dermatology</i> , 2003) .....	58

#### **Índice de tabelas:**

<b>Tabela 1:</b> Os quatro tipos de hipersensibilidade e respectiva mediação (Tabela Tizard, 2002). .....	25
<b>Tabela 2:</b> Precipitação total (mm), temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) referente à região de Viana do Castelo entre 2007 e 2011 (IM/MCTES, 2011) .....	44
<b>Tabela 3:</b> Temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) referente à região de Viana do Castelo nos meses de janeiro e abril de 2011 (Weatherunderground, 2011) .....	45
<b>Tabela 4:</b> Precipitação total (mm), temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) do ar referente à região de Lisboa entre 2007 e 2011 (IM/MCTES, 2011). .....	25
<b>Tabela 5:</b> Temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) do ar referente à região de Lisboa nos meses de janeiro, fevereiro, março, julho, outubro e novembro de 2011 (Weatherunderground, 2011) . .....	25
<b>Tabela 6:</b> Nomes, idades, proprietários, vacinação e desparasitação referentes ao grupo B1 e respectivos controlos do grupo A .....	42
<b>Tabela 7:</b> Nomes e idades dos equídeos do grupo B2 e respectivos controlos do grupo A localizados em Pegões.....	49

<b>Tabela 8:</b> Frequência, em percentagem (%) e número de amostras, relativamente ao grau de infecção dos sete garranos do ISA no decorrer dos 6 meses em estudo...	61
<b>Tabela 9:</b> Prevalência, em percentagem (%), dos diferentes géneros e espécies identificadas nas amostras dos garranos do ISA nos 6 meses de estudo.....	64
<b>Tabela 10:</b> Frequência, em percentagem (%) e número de amostras, relativamente ao grau de infecção dos garranos do Gerês .....	65
<b>Tabela 11:</b> Prevalências (%) das diferentes espécies identificadas nos garranos do Gerês durante janeiro e abril .....	68
<b>Tabela 12:</b> Comparação das prevalências médias, em percentagem (%), dos máximos, dos mínimos e medianas das espécies comuns em ambos os grupos de garranos. ....	71
<b>Tabela 13:</b> Logaritmo da Médias e desvios padrão do número de L3 /g nos grupos A, B1 e B2 .....	73
<b>Tabela 14:</b> Prevalência média (%) das espécies dos strongilídeos nos grupos A, B1, B2.....	74
<b>Tabela 15:</b> Percentagem (%) do grau de infecção de cada um dos grupos A, B1 e B2.. ....	75
<b>Tabela 16:</b> Comparação do grau de eliminação de ovos de strongilídeos, em percentagem (%), de equídeos com ORVA, de descendentes de equídeos com ORVA e de equídeos sem sintomatologia alérgica .....	84

### **Índice de gráficos:**

<b>Gráfico 1:</b> Temperatura do ar referente ao período de 1971 a 2000 na região de Viana do Castelo (IM, 2011).....	44
<b>Gráfico 2:</b> Temperatura do ar referente ao período de 1971 a 2000 na região de Lisboa (IM, 2011).....	47
<b>Gráfico 3:</b> Precipitação referente ao período de 1971 a 2000 na região de Lisboa (IM, 2011). ....	47
<b>Gráfico 4:</b> Média de OPG referentes aos garranos do ISA de janeiro a Novembro de 2011. ....	60
<b>Gráfico 5:</b> Média de L3/grama referente aos garranos do ISA dos 6 meses de estudo em 2011.....	61
<b>Gráfico 6:</b> Abundância proporcional média (%) das espécies de strongilídeos identificadas nos garranos do ISA .....	62

<b>Gráfico 7:</b> Abundâncias proporcionais médias (%) dos gêneros e das espécies identificadas nos garranos do ISA durante os 6 meses de estudo .....	63
<b>Gráfico 8:</b> Rendimento (%) das coproculturas nos diferentes meses em estudo dos garranos do ISA.....	65
<b>Gráfico 9:</b> Média de OPG de janeiro e abril para os garranos do Gerês. ....	66
<b>Gráfico 10:</b> Média de L3/grama em janeiro e abril para os garranos do Gerês....	66
<b>Gráfico 11:</b> Abundância proporcional média (%) dos gêneros e das espécies identificados nos garranos do Gerês.....	66
<b>Gráfico 12:</b> Abundância proporcional média (%) de strongilídeos no mês de janeiro e abril nos garranos do Gerês .....	67
<b>Gráfico 13:</b> Rendimento (%) das coproculturas dos garranos do Gerês em janeiro e abril. ....	68
<b>Gráfico 14:</b> Comparação das prevalências médias (%) dos gêneros e espécies de strongilídeos identificadas nas amostras dos garranos do ISA e do Gerês.....	70
<b>Gráfico 15:</b> Média do logaritmo de base 10 de OPG do grupo A, B1 e B2 .....	72

## **Índice de abreviaturas**

<b>L1-</b> primeiro estágio larvar
<b>L2-</b> segundo estágio larvar
<b>L3-</b> terceiro estágio larvar
<b>L4-</b> quarto estágio larvar
<b>L5-</b> quinto estágio larvar
<b>pH-</b> potencial hidrogénio iónico
<b>IgE-</b> imunoglobina E
<b>IgG-</b> imunoglobina G
<b>IgM-</b> imunoglobina M
<b>PNPG-</b> Parque Nacional da Peneda do Gerês
<b>ISA-</b> Instituto Superior de Agronomia
<b>ORVA-</b> Obstrução Recorrente das Vias Aéreas
<b>RAO-</b> Recurrent Airway Obstruction
<b>AINES-</b> anti-inflamatórios não esteróides
<b>M.O-</b> Microscópio Óptico
<b>AH-</b> anti-helmínticos



**BZD:** Benzimidazóis

**PBZD:** Pró-benzimidazóis

**IVM:** Ivermectina

**TID-** Testes intradérmicos

**TCP-**Testes cutâneos por picada

**EDTA-** Ethylenediaminetetraacetic acid

**PRO-** Período de Reaparecimento de Ovos

### **Índice de símbolos**

**°C-** graus Celsius

**%-** percentagem

**≥-** maior ou igual a

**μl-** microlitro

**ml-** mililitro

**m-** metro

**cm-** centímetro

**cm<sup>3</sup>-** centímetro cúbico

**mm-** milímetro

**μm-** micrómetro

**g-** grama

**kg-** quilograma

**kgpv-** quilograma de peso vivo

**OPG-** ovos por grama de fezes

**x-** média

**σ-** desvio padrão

## **Duas perspectivas da apreciação de resistência à infecção de estrongilidose nos equídeos em Portugal: garranos em pastoreio e cavalos com doenças alérgicas.**

### **1. Actividades desenvolvidas durante o estágio curricular**

A conclusão do curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária integrou a realização de um estágio curricular e uma dissertação.

#### **1.1. Hospital Escolar Veterinário- Faculdade de Medicina Veterinária**

O estágio curricular efectuou-se ao nível da Unidade Clínica de Grandes Animais (UCGA) da Faculdade de Medicina Veterinária (UTL) sob a orientação científica da Professora Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de Andrade Pimenta Tilley, na área de clínica e sanidade de equídeos. As actividades incluíram o diagnóstico e tratamento das diversas afecções, bem como, sanidade e profilaxia animal.

Além do mais o estágio também decorreu pela região centro de Portugal continental onde se realizaram as mais diversas actividades clinicas de equídeos já acima mencionadas.

##### **1.1.1. Equídeos**

Os casos clínicos mais comuns foram alterações ao nível do aparelho músculoesquelético (claudicações), os quais foram diagnosticados através do exame clínico, história pregressa e Raios x. Também foram realizadas endoscopias para visualização de úlceras gástricas e possível associação a factores de stress. Foram observados ferimentos ao nível do chanfro e dos membros. Realizou-se a extracção de dentes do lobo.

Em termos de oftalmologia, identificaram-se lesões ulcerativas. Registaram-se, também, casos clínicos de dermatite atópica, de hipersensibilidade à picada de insectos e de melanomas.

Ao nível sanitário realizaram-se vacinações anti-tetânicas e anti-influenza equina, bem como, desparasitações com anti-helmínticos.

Para a identificação dos animais, efectuaram-se resenhos para documentação oficial, e a colocação de “micro-chip”. Além do mais, foram colhidas algumas amostras de sangue cuja finalidade foi a inscrição dos animais no “*stud-book*” da raça Puro Sangue Lusitano.

Em termos de reprodução, efectuaram-se ecografias para diagnóstico de gestação e sincronização de modo a otimizar a eficiência reprodutiva. Também foram

executadas três castrações: duas em campo e uma na Faculdade de Medicina Veterinária.

### **1.1.2. Estadia no PNPG**

O percurso pela Serra da Peneda do Gerês foi uma aprendizagem sobre a fauna silvestre que incluiu a visualização de garranos bravios, caprinos silvestres, salamandras, vulgarmente conhecidos como lagartos de água, e cobras. No PNPG, sob a orientação do Dr. Nuno Santos, efectuou-se a eutanásia de uma ave de rapina, tratamento de uma vaca mirandesa e separação de amostras de baço e fígado de lobo.

### **1.2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (FMV-UTL)**

Esta parte do estágio incluiu a recolha das amostras e análise das mesmas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária.

A recolha foi realizada no PNPG, no ISA e na região centro de Portugal continental. A recolha no Gerês foi efectuada durante um percurso de 3 dias na Serra. As recolhas no ISA foram realizadas durante os 6 meses do estudo.

No estágio no laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UTL efectuou-se o processamento das amostras fecais dos garranos do Gerês, do ISA e dos cavalos com doença alérgica. As técnicas coprológicas utilizadas foram: método de MacMaster, método de flutuação (Willis), método de sedimento natural, método de concentração das larvas de nemátodes através do Aparelho de Baermann e coproculturas. Nesta última técnica, utilizando o M.O., foram contadas e identificadas as larvas infectantes (L3), com ampliações de, respectivamente, 50x e 100x.

## Capítulo I. Introdução

### 1.1. Perspectiva histórica do cavalo

Os equídeos são mamíferos ungulados que em termos taxonómicos pertencem ao Reino Animal, Filo *Chordata*, Classe *Mammalia*, Ordem *Perissodactyla*, Família *Equidae*, Género *Equus* e Espécie *Equus caballus*.

A evolução dos equídeos tal como a conhecemos, foi um processo gradual que durou cerca de 60 milhões de anos, e na qual

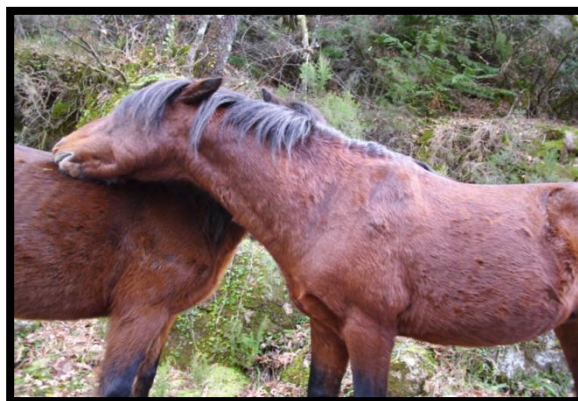


Fig.1- Garranos do PNPG

ocorreram diversas modificações desde o primeiro antepassado. Surgiram alterações na estatura, no formato da dentição e na estrutura dos membros. A altura a nível da espádua sofreu uma modificação gradual até atingir um metro e trinta centímetros no *Equus caballus*. Relativamente aos molares, modificações na dieta, fizeram com que estes ficassem com um formato prismático, as pontas do esmalte tornaram-se pontiagudas e deste modo, indicadas para triturar. Porém a alteração mais importante ocorreu ao nível dos membros, mais propriamente no que respeita ao número de dedos. Estes reduziram-se para apenas um, em ambos os membros, anteriores e posteriores, verificando-se vestígios do segundo e do quarto dedo, os metacarpos e os metatarsos, respectivamente, como ossos de espessura muito reduzida comparativamente aos dos antepassados (Mondadori, 1995).

Os equídeos são seres muito sociais e com um elevado instinto de agregação que lhes confere uma grande vantagem: uma maior facilidade na detecção do predador e por conseguinte a redução de ataques (Goodwin, 1999 citado por Cipriano, 2007). Os grupos de equídeos são constituídos por éguas, poldros e por um ou mais garanhões cujas funções são a continuidade da descendência e manutenção da segurança do grupo (Linklater, 2000; Heitor, 2001 citado por Cipriano, 2007)

### 1.2. Raça Garrana:

*“Rebelde primitivo do norte”*

(Catanho, 1989 citado por Moura de Gomes, 1996)

### **1.2.1. Características:**

Em Portugal, existem apenas três raças autóctones de equídeos: a Garrana, a Sorraia e a Lusitana (Andrade, 1938; Oom, 1992; Gomes, 1996; Portas *et al.*, 2001 citado por Cipriano 2007)

Em termos morfológicos os equídeos da raça Garrana apresentam pelagem castanha comum, eventualmente mais clara no ventre e no focinho, com presença reduzida de malhas; topete farto; crinas abundantes, tombando para ambos os lados; cauda com orla de pêlos encrespados na raiz da cabeça com perfil rectilíneo; orelhas curtas; pescoço moderadamente comprido; garrote pouco proeminente; dorso nem sempre horizontal; garupa inclinada; cauda de baixa inserção; peito profundo; abdómen arredondado e espádua direita; pernas sólidas, robustas, canelas curtas e cascos bem proporcionados e rijos. Relativamente ao seu garrote, este não excede 1 metro e 30 centímetros de altura e, por isso são “vulgarmente” conhecidos por póneis (Mondadori, 1995).

Os garranos que geralmente estão em pastoreio livre têm pouco contacto com o Homem e acabam por ter atitudes agressivas que são sinónimo de medo. Porém estes animais têm um carácter muito dócil e calmo, demonstrado à medida que o contacto com o Homem aumenta ou quando são criados por este.

### **1.2.2. Distribuição**

A raça garrana é constituída por núcleos dispersos por toda a Península Ibérica. Em Portugal, habitam em maior número na região montanhosa do Minho e de Trás-os-Montes (Andrade, 1938; Oom, 1992; Gomes, 1996; Portas *et al.*, 2001 citado por Cipriano 2007), existindo também na região a norte do rio Douro, a nível dos distritos da Guarda, Viseu, Aveiro e Coimbra (Sêrodió, 1992, citado por Gomes, 1996). Muitos dos exemplares de garranos encontram-se na área delimitada pelo Parque Nacional da Peneda Gerês.

### **1.2.3. Adaptação:**

Os garranos são equídeos cuja resistência e rusticidade lhes permite uma adaptação ideal a locais montanhosos com temperaturas extremas e elevada pluviosidade.

#### **1.2.4. Utilização:**

Dado o predomínio desta raça nas zonas rurais da região norte do país, os garranos são maioritariamente usados em tarefas relacionadas com agricultura, que anteriormente eram realizadas por burros (Andrade, 1938; Portas *et al.*, 2001 citado por Cipriano 2007). Todavia, hodiernamente verifica-se uma crescente aplicação desta raça no sector do turismo e lazer, indubitavelmente devido à sua baixa altura de garrote que não excede o 1 metro e 30 centímetros, o que a torna adequada e acessível a crianças e a pessoas com pouca experiência em montar a cavalo.

## **Capítulo II. Revisão Bibliográfica**

### **1.1. Parasitas gastrointestinais**

#### **1.2. Classe Nematoda**

A classe Nematoda inclui parasitas não segmentados, com simetria bilateral e com corpos de diversas dimensões, que poderão ir de poucos milímetros a um metro. Em termos de formas, os nemátodes apresentam desde aspecto cilíndrico e filiforme a fusiforme. Além do facto de os sexos serem separados, os nemátodes apresentam um marcado dimorfismo sexual, ou seja, as fêmeas apresentam dimensões superiores aos machos. Em termos morfológicos os nemátodes têm uma cavidade geral, com líquido sob pressão, designada por pseudoceloma, que providencia funções análogas ao sistema circulatório. Esta estrutura juntamente com a cutícula e a musculatura, dão origem ao esqueleto hidrostático que é responsável pelo movimento do corpo.

Possuem um tubo digestivo completo que difere de machos para fêmeas apenas na terminação do intestino, isto é, no caso das fêmeas o intestino termina sob a forma de ânus, enquanto no caso do macho termina sobre a forma de cloaca. Esta para além de ter a função excretora também tem a função copuladora (Cordero del Campillo, Rojo Vázquez, Martínez Fernández, Sánchez Acedo, Hernández Rodríguez, Navarrete López-Cozar, Díez Baños, Quiroz Romero & Carvalho Varela, 1999).

#### **1.3. Sistemática e Taxonomia dos Estrongilídeos**

Os nemátodes dos equídeos pertencem a sete subordens, doze famílias, vinte e nove géneros e oitenta e três espécies diferentes. Todavia são os parasitas pertencentes à família Strongylidae os mais comuns e os que induzem efeitos de maior gravidade nos equídeos (Lichtenfels, Kharchenko & Dvojnos, 2008; Stancampiano, Gras & Poglayen, 2010). Sabe-se que os parasitas que constituem a família Strongylidae representam cerca de 67% a 100% do total de nemátodes encontrados no interior do intestino de um equídeo ou asinino, caracterizando-se por promoverem infecções mistas onde coexistem parasitas de diferentes géneros, espécies e famílias (Madeira de Carvalho, 2003).

A família Strongylidae inclui duas subfamílias: a subfamília Strongylinae e a subfamília Cyathostominae (Lichtenfels *et al.*, 2008; Stancampiano *et al.*, 2010). A primeira inclui os géneros *Strongylus*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus* e *Craterostomum* como os mais frequentes nos equídeos domésticos (Arundel, 1989). Apesar de a sua prevalência ter diminuído, verifica-se que eles continuam a ser

isolados, tendo a espécie *Strongylus vulgaris* uma prevalência mensal e anual global, respectivamente de 11% e 28% (Madeira de Carvalho, 2001; Uhlinger, 2007). A subfamília Cyathostominae inclui os géneros como *Cyathostomum*, *Coronocylus*, *Cylicostephanus*, *Cylicocyclus*, *Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *ParaPoteriostomum*, *Cylicodontophorus* e *Cylindropharynx* (Gawor, 1994; Urquhart *et al.* 1996 citado por Pierezan, Rissi, Oliveira Filho, Lucena, Tochetto, Flores, Rosa & Barros, 2009).

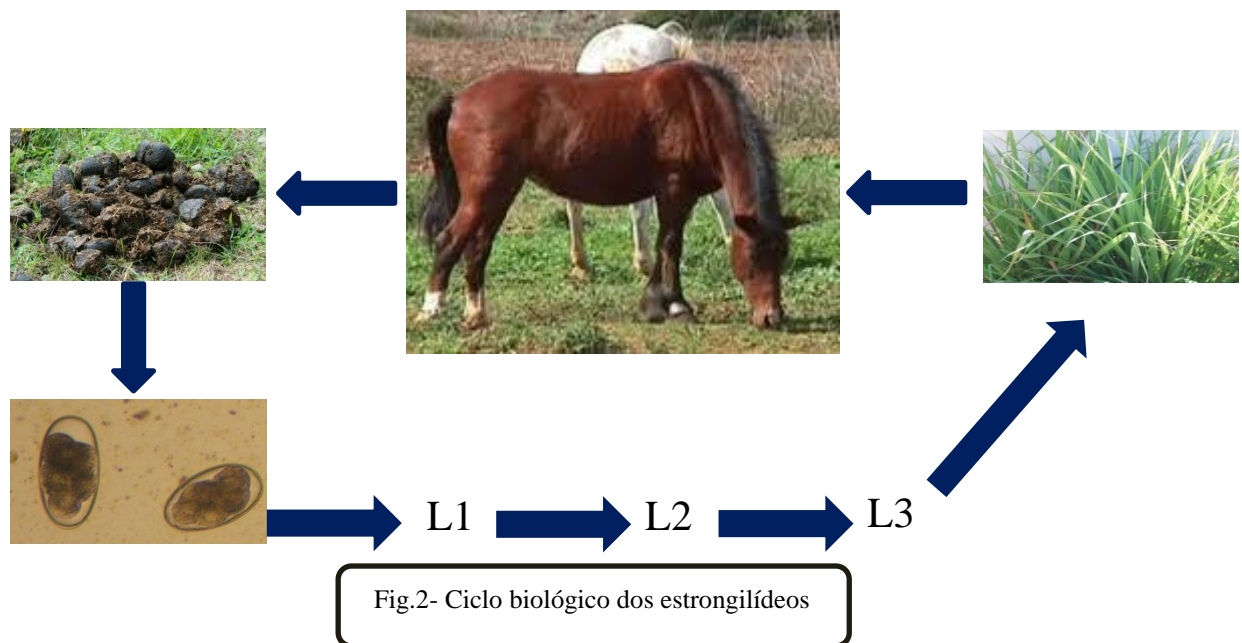
Os parasitas da subfamília Strongylinae diferem dos da subfamília Cyathostominae por duas principais razões: a primeira reside no tipo de migração, sendo as extra-intestinais características da subfamília Strongylinae, enquanto as migrações dos ciatostomíneos ou da subfamília Cyathostominae, cingem-se apenas ao intestino grosso. A segunda razão refere-se à diferença entre os períodos pré-patentes de ambos. O período pré-patente é o tempo que decorre desde a ingestão das formas infectantes ou L3 pelo hospedeiro até à produção de ovos pelas fêmeas adultas dos estrongilídeos. Os parasitas da subfamília Strongylinae, ou grandes estrongilídeos, apresentam períodos pré-patentes de duração mínima de 6 meses, e no caso dos ciatostomíneos, o período de menor duração vai de 6 a 12 semanas (Lyons, Drudge & Tolliver, 2000). Portanto, os grandes estrongilídeos têm períodos pré-patentes de maior duração que os ciatostomíneos. Todavia, as duas subfamílias também se diferenciam em termos morfológicos, sendo que todos os estrongilídeos com cápsula bucal cilíndrica ou em forma de anel pertencem à subfamília Cyathostominae, enquanto aqueles com cápsula bucal subglobular ou em forma de funil são característicos da subfamília Strongylinae (Madeira de Carvalho, 2003). Existe uma relação directamente proporcional entre o tamanho da cápsula bucal e a extensão das lesões. Como as larvas pertencentes à subfamília Strongylinae têm cápsulas bucais de maiores dimensões que as da subfamília Cyathostominae, isto implica que a extensão das suas lesões na mucosa do intestino grosso seja mais exuberante nos pontos onde se fixam (Duncan, 1982).

### **1.3.1. Ciclo biológico**

Os estrongilídeos têm um ciclo biológico no qual há cinco estados de desenvolvimento larvar até atingirem o estado adulto, isto significa que passam por quatro estados de mudança de cutícula (Kassai, 1999). Além disso, o ciclo biológico decorre em apenas um hospedeiro, ou seja, é um ciclo monoxeno. Porém, tem duas fases de desenvolvimento: a exógena e a endógena. No caso da fase exógena, há o desenvolvimento de estádios larvares no meio ambiente, sendo comum tanto na



subfamília Strongylinae como na Cyathostominae (Ogbourne & Duncan, 1985; Madeira de Carvalho, 2001). A fase de desenvolvimento endógena refere-se a migrações que as larvas efectuam no interior do hospedeiro, até atingirem o estado adulto, no intestino grosso (Ogbourne & Duncan, 1985; Madeira de Carvalho, 2001). Esta ocorre após a ingestão das L3 que, ao chegarem ao intestino grosso, efectuam migrações por diferentes trajectos consoante a espécie.



#### 1.3.1.1. Ciclo Biológico Exógeno

São libertados para o exterior, nas fezes do hospedeiro, ovos de estrongilídeos que têm uma cutícula de origem quitinosa e uma membrana vitelina interna.

No exterior, após o desenvolvimento embrionário, as larvas L1 eclodem e passam por duas mudanças de cutícula no meio ambiente: de L1 a L2 e de L2 a L3. Relativamente às larvas L1 e L2, estas têm uma alimentação à base de bactérias, protozoários e substâncias de natureza diversa. Finalmente a segunda mudança de cutícula, dá origem à forma infectante (L3) cuja alimentação é baseada nas substâncias armazenadas nas células intestinais, nomeadamente glicogénio (Cordero del Campillo *et al.*, 1999)

##### 1.3.1.1.1. Desenvolvimento embrionário até L3

Os ovos de estrongilídeos sofrem processos de segmentação antes de serem expelidos para o exterior. Já no ambiente externo ao hospedeiro, as larvas L1, correspondentes ao primeiro estágio de desenvolvimento larvar, eclodem segundo condições específicas de temperatura e humidade (Soulsby, 1986; Madeira de Carvalho, 2001).

Em primeiro lugar, a temperatura deve estar compreendida entre 10°C e 35°C, de modo a que ocorra desenvolvimento, sendo lento e irregular quando for inferior a 10°C e rápido quanto mais elevada for a temperatura (Mfitilodze & Hutchinson 1987). O limite, a partir do qual não ocorre qualquer desenvolvimento embrionário é abaixo de 4°C. Relativamente à humidade, estudos demonstraram que para valores inferiores a cerca de 15% a 20% não ocorre desenvolvimento larvar (Mfitilodze & Hutchinson, 1987 citado por Nielsen, Kaplan, Thamsborg, Monrad, Olsen, 2007), mas para valores entre 57%- 63% este já acontece (Rossanigo & Gruner, 1995 citado Nielsen, Kaplan, Thamsborg, Monrad & Olsen, 2007). Se as condições de temperatura e de humidade não estiverem dentro desses parâmetros, o que acontecerá é que os ovos embrionados irão permanecer num estado de latência, voltando a ocorrer desenvolvimento assim que as condições voltarem a ser favoráveis (Cordero del Campillo *et al.*,1999).

Após a formação das L1 ocorre a primeira mudança de cutícula, dando origem ao segundo estágio larvar ou às L2. De acordo com Ogbourne (1972) e Reinemeyer (1986), os primeiros estados larvares são muito pouco resistentes a temperaturas baixas e a maior parte morre quando exposta a temperaturas abaixo dos 0°C, ou mesmo quando há alternância entre temperaturas baixas e moderadas (Mfitilodze & Hutchinson, 1987). Perante uma acentuada diminuição da humidade, a dessecação das fezes irá promover a morte das L1. Por sua vez, as L2 são bastante mais resistentes e poderão estagnar o seu desenvolvimento, retomando-o assim que as condições de humidade sejam favoráveis (Cordero del Campillo *et al.*,1999).

A passagem de L2 a L3 corresponde à segunda mudança de cutícula, que tem a particularidade de não se separar do corpo da larva, apesar de se destacar (Ogbourne, 1971; Dunn, 1978; Soulsby, 1986; Madeira de Carvalho, 2001). Este é um mecanismo de protecção das L3, porque assim a bainha confere-lhes uma maior resistência a alterações de temperatura e de humidade desfavoráveis ao seu desenvolvimento (Cordero del Capillo *et al.*, 1999).

#### **1.3.1.1.2. Desenvolvimento das L3**

Como já foi mencionado no desenvolvimento embrionário até L3, para atingir o este estágio são necessárias condições favoráveis de temperatura e humidade. Portanto, se a temperatura for de 10°C a eclosão total ocorre durante 7 dias, e o estágio de L3 é alcançado 24 horas depois, para cerca de 80% das larvas. Se a temperatura for de 20°C, a eclosão completa-se entre 1 a 2 dias e a maior parte das larvas só o irão atingir

aos em 7 dias. Caso a temperatura alcance os 35°C, todas as larvas atingem o estágio de L3 em 3 ou 4 dias. Portanto, o limite de temperatura para o desenvolvimento larvar situa-se entre os 20°C e os 33°C, em que os valores ideais oscilam entre 25°C e 28°C (Rupashinghe & Ogbourne, 1971; Reinemeyer, 1986; Madeira de Carvalho 2001). Estudos realizados vieram confirmar que as L3 não se desenvolviam para valores de humidade inferiores a 14%, mas como a humidade está intimamente relacionada com a temperatura, verificou-se que para valores de 37°C existia maior número destas larvas em fezes secas (10%) do que em fezes húmidas (42%). Isto significa, que para valores inferiores de humidade e valores elevados de temperatura, as larvas tornam-se menos activas permitindo a conservação das suas reservas alimentares, resultando assim num aumento do seu período de vida. No segundo caso, como a humidade é elevada, as L3 recorrem mais rapidamente às suas reservas, e portanto, há diminuição do período de vida das mesmas (Mfitlodze & Hutchinson, 1987). Todavia, se apenas tivermos em conta a temperatura, as L3 têm maior tolerância a temperaturas próximas a 0°C que a temperaturas elevadas porque em condições adversas elas diminuem o metabolismo e consequentemente aumentam a sua taxa de sobrevivência. Portanto, em virtude das temperaturas aumentarem durante a Primavera e o Verão, verifica-se um aumento do metabolismo destas larvas e subsequentemente um aumento da utilização das reservas alimentares, o que diminui a sua sobrevivência. Por sua vez, as temperaturas baixas dos meses de Inverno, fazem com que o metabolismo larvar se mantenha igual ou até diminuído e assim as larvas sobrevivem por mais tempo.

#### **1.3.1.1.3. Distribuição das L3 na pastagem**

Os equídeos tendem a separar duas zonas na pastagem: a zona onde defecam e a zona onde pastam. Assim, como a zona onde defecam tem um pastoreio menos intenso as ervas apresentam maiores dimensões em comparação com a zona de pastoreio. Em termos de deslocamento das L3 nas zonas de pastoreio, elas conseguem atingir 30 cm de distância em relação às fezes (Madeira de Carvalho, 2001). Contudo há autores que considerem que elas atingem no máximo uma distância de 15 cm (Langrová, Jankovská, Borovský & Fiala, 2003). Nas zonas onde defecam, como as ervas tem maiores dimensões, a concentração das larvas pode atingir distâncias 15 vezes superiores a 30 cm (Hutchinson, Abba & Mfitlodze, 1989; Madeira de Carvalho, 2001).

#### **1.3.1.1.4. Movimento das L3 na pastagem**

Em termos de movimento, tanto a temperatura como a humidade desempenham um papel primordial no desenvolvimento larvar e no metabolismo das larvas. Como já foi referido anteriormente, as larvas têm maior longevidade de vida quando as condições de temperatura estão compreendidas entre 25°C e 28°C, que é o ideal de desenvolvimento. Na pastagem as L3 estão em maior número nas horas de menor intensidade luminosa, que corresponde às primeiras e às últimas horas do dia, sendo o pico às 7 horas da manhã (Langrová *et al.*, 2003). Este corresponde ao fototropismo positivo para a luz de fraca intensidade. Para além deste, as L3 apresentam geotropismo negativo correspondente ao deslocamento através das gotículas de água existentes nas ervas. Este é o veículo que permite às larvas atingirem alturas de 10 a 40 cm em relação ao solo (Hutchinson *et al.*, 1989; Madeira de Carvalho, 2001)

#### **1.3.1.2. Ciclo Biológico Endógeno**

O ciclo biológico endógeno consiste no desenvolvimento L3 até ao estado adulto no interior do hospedeiro.

A chegada das larvas L3 ao intestino grosso é acompanhada pela perda da bainha e consequente saída da larva através de uma fissura longitudinal (géneros *Cyathostomum* e *Triodontophorus*) ou transversal (*Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatus*, *Triodontophorus axei*), da referida bainha e que se localiza na região do esófago. Todo esse processo ocorre por acção do conteúdo duodenal equino a 38°C e pela flora microbiana de coliformes (Madeira de Carvalho, 2001). O tipo de migração que as larvas efectuem depende da espécie em questão e, será abordado mais adiante na caracterização das espécies.

## **2. Características dos Grandes Estrongilídeos**

Os grandes estrongilídeos ou larvas pertencentes à subfamília Strongylinae são parasitas que se encontram na forma adulta principalmente no cólon ventral, cego e menos frequentemente, no cólon dorsal, de equídeos e asininos (Stancampiano *et al.*, 2010). São responsáveis por quadros clínicos exuberantes que podem culminar na morte do hospedeiro, que advém das migrações extra-intestinais que realizam e que serão mencionadas na descrição do ciclo biológico endógeno de cada um deles.

Em termos morfológicos os grandes estrongilídeos são nemátodes de tamanho médio a grande com uma cor vermelha escura e, portanto facilmente visíveis na mucosa

intestinal. Relativamente à cápsula bucal, esta tem um formato globular ou em forma de funil, como já foi referido anteriormente.

Para distinguirmos as fêmeas dos machos, basta ter em conta que as fêmeas têm uma cauda romba ou cónica e, os machos têm uma bolsa copuladora, normalmente, constituída por lóbulos. Além do mais, apresentam um marcado dimorfismo sexual.

Porém, de modo a distinguir as diferentes espécies, há que ter em conta se têm ou não dentes e, caso o tenham, ter em conta o número e o formato dos mesmos (Urquhart *et al.*, 1996; Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

## **2.1. Género *Strongylus***

Os parasitas do género *Strongylus* incluem as espécies *Strongylus vulgaris*, *S. equinus* e *S. edentatus* (Lichtenfels *et al.*, 2008).

### **2.1.1 *Strongylus vulgaris***

#### **2.1.1.1 Morfologia e identificação**

Em termos morfológicos, a espécie *Strongylus vulgaris* destaca-se das restantes por possuir um dente de bordos arredondados e em posição dorsal. Como já foi referido nas características dos grandes estrongilídeos, as larvas desta espécie apresentam um marcado dimorfismo sexual, tendo os machos 14 a 16 mm de comprimento e as fêmeas cerca de 20 a 24 mm (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Lichtenfels *et al.*, 2008).

Quanto à identificação das L3, estas apresentam 28 a 32 células intestinais, bem definidas, com conformação pentagonal ou triangular. O comprimento médio poderá atingir os 935,6 µm e largura média de 32,1µm (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007, 2008).

#### **2.1.1.2. Ciclo biológico endógeno**

Após a ingestão, as L3 perdem a sua bainha e penetram, cerca de 2 dias pós-infecção, na mucosa e submucosa do íleo, cego e cólon ventral (Foreyt, 2001). Esta penetração promove edema e dilatação de pequenas artérias, veias e capilares. No 4º a 5º dia pós-infecção as L3 transformam-se em L4 (quarto estágio de desenvolvimento larvar) e penetram na submucosa das artérias. No 8º dia pós-infecção, as L4 atingem quer as artérias cecais quer as cólicas, promovendo a formação de fios de fibrina na parede das artérias que levam à formação de trombos. É por volta do dia 11 a 14 que as larvas

atingem a artéria mesentérica cranial dando-se o pico do número de larvas a partir do dia 19. A última mudança de cutícula, isto é a passagem ao quinto estágio de desenvolvimento larvar ou a L5, surge cerca do 90º a 120º dia pós-infecção nesta mesma zona. As L5 retornam ao intestino, formando nódulos nos quais permanecem durante 4 meses, até se libertarem para o lume intestinal. Só ao fim de 6 a 8 semanas é que atingem a maturidade sexual (McCraw & Slocombe, 1976).

No entanto, não são só estas migrações extra-intestinais que as larvas de *Strongylus vulgaris* efectuam, dado que também poderão atingir a aorta anterior, coração, cérebro e artéria ilíaca. Estas migrações designam-se de erráticas. Estudos realizados por Turk & Klei (1984) demonstraram a existência de granulomas eosinófilos a nível dos pulmões, coração, fígado e intestino de equídeos, compatíveis com a migração aberrante de larvas desta espécie.

De acordo com Round (1969) e Duncan (1973), a duração do ciclo de vida das larvas de *Strongylus vulgaris* varia entre 5 a 7 meses (Arundel, 1989; Kaplan & Nielsen, 2010).

#### **2.1.1.3. Sintomatologia**

De uma forma geral, uma infecção crónica provocada por grandes e pequenos strongilídeos causa diarreia, anemia, perda de performance, condição corporal e de brilho no pêlo (Kassai, 1999). Porém, são os grandes strongilídeos, mais propriamente as larvas de *Strongylus vulgaris*, as que provocam sinais clínicos mais exuberantes, dado o tipo de migrações que efectuam referidas no ciclo biológico. A infiltração das L3 de *Strongylus vulgaris* nas arteríolas intestinais tem como principal consequência a formação de trombos, cujos fragmentos alojam-se em zonas da parede do cego e do cólon. Tudo isto culmina com a ocorrência de um enfarte isquémico ou hemorrágico a nível da parede intestinal e, consequentemente, com a ocorrência de uma peritonite, que provoca uma variedade de sinais clínicos, tais como, taquisfígmia, febre, desconforto abdominal e dor, que são todos sinais clínicos associados a um episódio de cólica (Duncan & Pirie, 1975; Kassai, 1999).

O contacto constante com a íntima das arteríolas provoca um processo inflamatório e por sua vez dilatação da parede das arteríolas, adelgaçamento, aneurismas e abscessos. Todos estes sinais clínicos trazem limitações a nível da locomoção desencadeando episódios de claudicação, como consequências de obstruções tanto a nível da artéria femoral como da ilíaca (Kassai, 1999).

### **2.1.2. *Strongylus equinus***

#### **2.1.2.1 Morfologia e identificação**

As larvas de *Strongylus equinus* têm uma cápsula bucal com três dentes pontiagudos, em que os dois de menores dimensões estão em posição ventral em relação ao outro, em posição dorsal. Em termos de dimensões, mais concretamente em termos de comprimento, os machos variam entre 24 a 36 mm, enquanto as fêmeas variam entre 39 mm a 46 mm.

Relativamente às L3, estas são consideradas larvas de grandes dimensões e finas pelo facto do seu comprimento médio e largura média serem respectivamente, 901  $\mu\text{m}$  e 18,3  $\mu\text{m}$ . Na observação das células intestinais torna-se evidente o seu formato triangular por vezes alongado e mal definido. Além disso, a transição entre o esófago e o intestino é muito pouco distinta (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007, 2008).

#### **2.1.2.2. Ciclo biológico endógeno**

Após atingirem o intestino grosso, as larvas atravessam a parede do íleo, do cego e do cólon ventral direito e esquerdo, formando nódulos onde permanecem até ao quarto dia após a infecção, altura da ocorrência da quarta mudança de cutícula. Do 5º ao 7º dia, as L4 migram dos nódulos, através da camada muscular e serosa do intestino, para a cavidade peritoneal, onde permanecem 11 dias.

É só, a partir do 19º dia, pós infecção, que as L4 atingem o fígado onde permanecem entre 6 a 8 semanas. Ao abandonarem os tecidos hepáticos, atingem o tecido pancreático e peripancreático realizando nestes locais a última mudança de cutícula, que dá origem a adultos imaturos (22 semanas). As larvas adultas abandonam o pâncreas, deslocando-se para o cego e deste para o cólon, onde finalmente obtêm a maturidade sexual. Todo esse período tem aproximadamente, uma duração de 8 a 9 meses (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Podem ocorrer migrações erráticas, nas quais há a formação de granulomas a nível do diafragma, omento e na pleura pulmonar (McCraw & Slocombe, 1978).

#### **2.1.2.3. Sintomatologia/ Patogenia**

A sintomatologia é a mesma que em todos os parasitas gastrointestinais, ou seja, anemia, diarreia e cólica (sinais clínicos associados a cólica). Em termos patológicos, as larvas de *Strongylus equinus* causam nódulos no parênquima pancreático com

posterior evolução fibrótica e lesões hemorrágicas a nível da serosa do íleo e do cólon ventral (McCraw & Slocombe, 1978).

### **2.1.3. *Strongylus edentatus***

#### **2.1.3.1. Morfologia e identificação**

A atribuição da designação *Strongylus edentatus* advém do facto de as larvas de *Strongylus edentatus* possuírem uma cápsula bucal isenta de dentes. Em termos de dimensões, o comprimento destas larvas varia entre 22 a 26 mm de comprimento nos machos, e entre 32 a 43 mm nas fêmeas (Lichtenfels *et al.*, 2008).

No que diz respeito às larvas L3, o número de células intestinais varia entre as 18 e 20, com formato triangular, estreito e com má definição. O comprimento médio e largura média das larvas infectantes é respectivamente de 788,5 µm e de 22,5 µm (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007, 2008).

#### **2.1.3.2. Ciclo biológico endógeno**

As larvas de *Strongylus edentatus* penetram a nível da mucosa do cego e cólon ventral direito e quando o fazem perdem a sua bainha (McCraw & Slocombe, 1974). O destino da primeira fase da migração das larvas de *Strongylus edentatus* é o fígado, e este só é atingido cerca de 40 horas após a infecção. As larvas permanecem durante mais 2 a 3 semanas no fígado até ocorrer a passagem a L4. Só após atingirem este estágio é que a deslocação para os ligamentos hepáticos com consequente formação de quistos subperitoneais é possível (6 a 8 semanas pós infecção). A formação destes é primordial, uma vez que é no seu interior que ocorre a última mudança de cutícula, isto é, formação das L5. Após esse período, as L5 atravessam as camadas do mesocólon e atingem as paredes do cego e do cólon, dando origem a novos quistos hemorrágicos cuja ruptura implica a libertação das formas adultas de *Strongylus edentatus* para o lúmen do intestino grosso. Todo esse processo decorre durante aproximadamente 10 a 12 meses (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). No entanto, destaca-se a possibilidade das larvas de *Strongylus edentatus* realizarem migrações erráticas, quer para os pulmões, quer para o pâncreas (McCraw & Slocombe, 1977)

#### **2.1.3.3. Sintomatologia/ Patogenia**

A sintomatologia é a mesma que em todos os parasitas gastrointestinais, ou seja, anemia, diarreia e cólica, assim como, sinais clínicos associados à mesma.



Todavia, em termos patológicos, verifica-se a existência de trajectos tortuosos a nível do parênquima hepático, compatíveis com as migrações das larvas e de granulomas eosinofílicos no ceco e cólon ventral direito (McCraw & Slocombe, 1974).

## **2.2 Género *Triodontophorus***

O género *Triodontophorus* tem distribuição mundial e encontra-se no ceco e no cólon de equídeos e asininos (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn & Jennings, 1996). As espécies que se destacam são: *Triodontophorus serratus*, *T. tenuicollis*, *T. brevicauda*, *T. minor*, *T. burchelli*, *T. nipponicus* e finalmente a espécie *T. hartmannae*. Contudo, há quem defenda que a espécie com maior importância é a espécie *T. tenuicollis* (Lichtenfels *et al.*, 2008).

### **2.2.1. Morfologia e identificação**

As larvas apresentam uma cápsula bucal com três pares de dentes, cada uma com três cúspides (Fonseca, 2002). As L3 possuem 18 a 20 células intestinais com formato rectangular ou pentagonal, sendo consideradas larvas grossas e de tamanho médio, visto que a sua largura e o seu comprimento médio total, são respectivamente, 28,4 µm e 834,2 µm. Relativamente às larvas de *Triodontophorus serratus*, estas apresentam um total de 16 células intestinais e um comprimento total médio e largura média, de respectivamente, 907 µm e 30,1 µm. (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007, 2008).

### **2.2.2. Ciclo biológico endógeno**

As L3 do género *Triodontophorus* ao atingirem a mucosa intestinal formam nódulos a nível do ceco e do cólon como resultado das migrações que realizam nestas regiões e que se restringem única e exclusivamente à parede daqueles órgãos (Madeira de Carvalho, 2001). A formação de grupos de diversas larvas e adultos que se alimentam na mesma região da mucosa é típico da espécie *Triodontophorus tenuicollis* (Urquhart *et al.*, 1996).

### **2.2.3. Sintomatologia/ Patogenia**

As larvas do género *Triodontophorus* têm uma acção hematófaga ao nível da mucosa intestinal, que culmina na formação de úlceras de diversas dimensões. Destas, advêm perdas de sangue responsáveis por anemia, perda de peso consequência da diminuição da absorção de nutrientes e finalmente diarreia.

#### **2.2.4. Epidemiologia**

Estudos realizados por Uslu & Guçlu (2007) em equídeos e asininos em Konya, uma região da Turquia, demonstraram que a prevalência de larvas do género *Triondotothorus* foi, respectivamente, de 6,3% e 4,93% (Sapkota, 2009). Todavia, em Portugal, estudos realizados por Madeira de Carvalho (2001) demonstraram que a sua prevalência foi de 0,7% em coprocultura, embora os espécimes adultos de *T. serratus* apresentassem uma prevalência de 21,7% em análises de fezes de equídeos submetidos a desparasitação, um valor bem superior ao detectado por Uslu & Guçlu (2007).

### **3.Subfamília Cyathostominae**

Os ciatostomíneos, também conhecidos como “pequenos strongilídeos” são parasitas que existem em maior abundância no cego e no cólon ventral dos equídeos, asininos e zebras e, estando identificadas mais de 50 espécies (Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgaarten, Rey-Moreno, Hermosilla, Made Damriyasa & Zahner, 2006; Kaplan *et al.*, 2010).

Actualmente, os ciatostomíneos são considerados os strongilídeos com maior prevalência nos equídeos e, são responsáveis por grande parte dos sinais clínicos associados ao parasitismo gastrointestinal (Madeira de Carvalho, 2001).

Em termos de características morfológicas, distinguem-se por serem nemátodes de médias a reduzidas proporções e com cápsulas bucais cilíndricas, como já foi anteriormente referido (Lichtenfels *et al.*, 2008).

#### **3.1. Morfologia e identificação**

Como já foi referido anteriormente, os ciatostomíneos são nemátodes que têm dimensões reduzidas, no entanto, há autores que admitem que o tamanho destes é inferior a 15 mm de comprimento, enquanto outros afirmam que o comprimento dos ciatostomíneos varia entre 5 a 12 mm. Em termos morfológicos, as larvas L4/L5 e as formas adultas têm um formato filiforme e uma tonalidade que varia de esbranquiçada a vermelho escuro (Lyons *et al.*, 2000; Pierezan, Rissi, Oliveira Filho, Lucena, Tochetto, Flores, Rosa & Barros, 2009).

No género *Cyathostomum*, são consideradas 8 tipos de larvas infectantes, e pela primeira vez são assinaladas larvas com 6, 7 e 9 células intestinais, incluídas no género *Cyathostomum* pelas semelhanças relativamente à morfologia e ao tamanho.

Segundo Madeira de Carvalho *et al.* (2004, 2008) os tipos larvares que designámos como A, B, C e D apresentavam um arranjo bem definido de 8 células intestinais com organização e forma bem definidas e, com um comprimento total médio que varia entre 812  $\mu\text{m}$  e 848  $\mu\text{m}$ . No caso das larvas de *Cyathostomum* A, as primeiras 2 células estão dispostas em fila dupla e as restantes 6 em fila única, enquanto as larvas de *Cyathostomum* D apresentam 8 células intestinais em fila única, com forma trapezoidal ou triangular e, comprimento total médio de 842,8  $\mu\text{m}$ . Ainda segundo Madeira de Carvalho *et al.* (2004, 2008), além das larvas *Cyathostomum* A e *Cyathostomum* D, o género *Cyathostomum* inclui ainda os subtipos *Cyathostomum* E, F, G e H, cujo número de células intestinais varia entre 6 a 9 células intestinais, sem organização e sem forma definida e com comprimento total médio que varia entre e 773,3 a 886  $\mu\text{m}$ . As larvas de *Cyathostomum* E apresentam 6 células intestinais triangulares e/ou trapezóides, com arranjo diverso, dispostas em fila dupla ou única. O comprimento total médio deste grupo é de 773,3  $\mu\text{m}$ . As larvas de *Cyathostomum* F têm dimensões médias com 7 células cujo formato varia entre triangular a trapezóide com arranjo diverso, ou seja, 2 a 4 células estão em fila dupla e as restantes em fila única ou então podem ter um arranjo misto. Em termos de dimensões, são consideradas larvas de médias dimensões, sendo o seu comprimento total médio de 842,2  $\mu\text{m}$ .

### 3.2. Ciclo biológico endógeno

As larvas infectantes antes de penetrarem na mucosa intestinal do intestino grosso, mais propriamente a nível do cego e do cólon ventral direito (Laugier-Collobert, Hoste, Sevin & Dorchies, 2002), perdem a sua bainha. A maior parte das espécies de ciatostomíneos, ao atingirem as glândulas de *Lieberkühn*, penetram na mucosa e por vezes na submucosa, promovendo a formação de quistos intestinais ou então evoluem directamente para o estágio L4. No primeiro caso, os quistos formam-se em torno das formas L3 por acção dos fibroblastos (Ogbourne, 1978). As larvas enquistadas (L3) na mucosa intestinal poderão permanecer em estágio hipobiótico (ou sequestrado) de desenvolvimento, durante um máximo de cerca de 2 anos (Giles *et al.* 1985, Lyons *et al.*, 2000; Pierezan *et al.*, 2009), o que pode estar relacionado com os seguintes factores (Eysker, 1997 citado por Kaplan & Matthews, 2004):

- Resistência dos hospedeiros.

- Grande densidade populacional de nemátodes que diminui a quantidade de espaço e alimento disponível.
- Condições ambientais adversas.

Este processo designa-se de hipobiose e consiste na inibição ou diminuição do desenvolvimento larvar, no qual as larvas não se alimentam nem se movimentam e, só voltam ao seu metabolismo normal quando as condições forem favoráveis. Existem dois processos que permitem que as larvas roturem os quistos e se libertem para o lúmen intestinal, nomeadamente a acção de alguns desparasitantes e, a acção natural climática, que ocorre no final do Inverno e princípio da Primavera, em climas temperados (Baudena, 2003; Tamzali & Birague, 2006; Sellon & Long, 2007).

### **3.3. Sintomatologia/ Patogenia**

Um dos principais sinais clínicos associado aos ciatostomíneos é a diarreia de início súbito, que em casos prolongados, torna-se crónica, promovendo morte em cerca de 50% dos animais, num espaço de 2 a 3 semanas. Relativamente às causas de surgimento de diarreia destacam-se duas: a penetração das larvas L3 na mucosa intestinal e a saída das larvas enquistadas da mucosa intestinal. No primeiro caso temos uma situação típica de “ciatostominose” de Primavera, caracterizada por emagrecimento e diarreia, por vezes alternando com copróstase. Neste segundo caso, temos uma situação que é típica do final do Inverno e início da Primavera e à qual se designa “ciatostomose larvar” cuja sintomatologia é caracterizada por diarreia, por vezes líquida, pirexia, edema subcutâneo, diminuição de peso e cólica (Reinmeyer, 1986; Stems, Shaw, Deprez & Vercruysse, 1999; Uhlinger, 1990 citado por Proundman & Matthews, 2000; Lyons *et al.*, 2000; Pierezan *et al.*, 2009; Corning, 2009). Estes sinais clínicos são exuberantes em equídeos jovens, mas podem também atingir os mais velhos (Ogbourne, 1978).

Em termos patológicos, a exuberância das lesões está dependente do grau de infecção: infecções pouco graves provocam inflamação e lesões só em torno dos quistos, infecções graves promovem enterite catarral ou fibrinosa e nas infecções muito graves há enterite edematosa associada a erosão do epitélio e ulceração do mesmo (Gogolka, 1933; Wagner, 1935 citado por Poynter, 1969; Ogbourne, 1978; Reinmeyer, 1986; Mair, 1994 citado por Baudena, 2003). Algo que pode acontecer é o surgimento de infecções bacterianas secundárias do intestino grosso, que surgem como consequência do tecido intestinal lesado (Ogbourne, 1978).

### 3.4. Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado recorrendo ao exame laboratorial das fezes e dos parâmetros sanguíneos. A via mais utilizada e mais barata para os proprietários é o diagnóstico por exame das amostras fecais, pois a finalidade é a identificação de L3 através do Método de ROBERTS & O'SULLIVAN. Também se pode recorrer ao Método de McMaster, para determinação do número de ovos por grama de fezes (OPG). Relativamente aos parâmetros sanguíneos, verifica-se que não há nenhum sinal que seja patognomónico de infecção por ciatostomíneos. Há animais que apresentam anemia, particularmente comum em animais jovens, mas mesmo assim não é um parâmetro fiável para inferir que o animal está infectado por ciatostomíneos. Também é comum a eosinofilia, que é resultante ou da penetração das L3 ou da emergência de larvas L4, assim como a leucocitose que está relacionada com a gravidade dos sinais clínicos (Reinemeyer, 1986).

Porém têm surgido novas técnicas de diagnóstico a partir das quais utilizam IgG anticorpos como marcadores de infecção. Já existindo *kits* de ELISA disponíveis (Matthews, Hodgkinson, Dowdall & Proudman, 2004; Uhlinger, 2007).

### 3.5. Epidemiologia

Os equídeos quando estão em pastoreio podem se infectar por larvas de ciatostomíneos que sobreviveram ao Inverno ou então, através de ingestão de larvas de estrongilídeos que foram eliminadas durante a própria época de pastoreio (Primavera) (Craig, 1999). Estudos demonstram que a taxa de infecção é superior em equídeos com idades inferiores a 5 anos do que em equídeos mais velhos (Klei & Chapman, 1999).

A taxa de infecção dos equídeos por ciatostomíneos está intimamente relacionada com dois factores de extrema importância: a pluviosidade e a temperatura. No primeiro caso, estudos realizados verificaram que a taxa de infecção é superior em meses em que a pluviosidade é mais abundante em comparação com os meses em que a pluviosidade é mais baixa. A pluviosidade é determinante no movimento das larvas ao longo da pastagem, pois as larvas utilizam as gotículas de água para se movimentarem (Bezerra, Machado do Couto, Moura de Souza, Bevilaqua, Silva Anjos, Sampaio & Rodrigues, 2007).

De acordo com certos autores, os valores ideais à passagem de ovos a L1 são entre 10°C a 30°C, existindo no entanto, outros que consideram ser entre 12°C e 30°C, sendo o ponto óptimo de desenvolvimento a 25°C. Isto permite inferir que o

desenvolvimento de ovos a larvas é elevado nos meses de Verão (Christensson & Osterman, 2009), mas o mesmo não ocorre para o desenvolvimento larvar, visto que temperaturas elevadas diminuem o período de vida larvar, como já focámos. Assim, o pico de ovos ocorre durante a Primavera/Verão, havendo pico do número de larvas na pastagem também durante o Outono, prolongando-se até à Primavera. Portanto infere-se que os meses de maior probabilidade de infecção são o Outono e Primavera devido ao elevado número de larvas na pastagem (Craig, 1999).

## **4. Desparasitação**

### **4.1. Formas de controlo parasitário**

Além da eliminação da sintomatologia associada a elevadas cargas parasitárias responsáveis por quadros clínicos que podem levar à morte, é importante efectuar um controlo parasitário adequado, de modo a evitar contaminações da pastagem (Wescott, 1986).

#### **4.1.1. Anti-helmínticos**

Apesar de ter ocorrido várias mudanças ao longo do tempo no que respeita ao uso de anti-helmínticos, actualmente em Portugal, as principais classes químicas usadas são: as Lactonas Macroclínicas (ivermectina e moxidectina), os Benzimidazóis, BZD (febendazol e oxibendazol), os Pró-benzimidazóis, PBZD (febantel), as Tetrahidropirimidinas (sais de piperazina) e os Heterocíclicos (Kaplan *et al.*, 2010). Adicionalmente, os BZD e a Ivermectina (IVM) encontram-se associados a duas substâncias de espectro de acção mais estreita, a piperazina (para nemátodes) e o praziquantel (para céstodes, em particular os anoplocefalídeos) (Madeira de Carvalho, 2008; Frouco, 2011).

#### **4.1.2. Estratégia de Administração de anti-helmínticos**

Segundo Soulsby (1986) e Madeira de Carvalho (2001), nos equídeos podem ser considerados três níveis de eliminação de OPG e um limiar de tratamento:

- Infecção fraca: 0-450 OPG.
- Infecção média: 450-1 000 OPG.
- Infecção elevada: > 1 000 OPG.
- Limiar de tratamento: 200 OPG.

Contudo, de acordo com certos autores, a desparasitação só deve ser realizada quando a contagem de ovos por grama (OPG) for superior a 200, de modo a evitar situações de resistência e de gastos monetários desnecessários (Nielson, 2009). Na maior parte dos casos os tratamentos parasitários têm duração de 4 a 6 semanas (Duncan, 1982).

Para que o uso de anti-helmínticos seja racional há que ter em conta um conjunto de pressupostos, tais como: adequar a substância ao tipo de animal, calcular correctamente a dose, avaliar o grau de parasitismo do animal, as estações (indicadas de seguida) e identificar o objectivo do proprietário. Tendo em conta aos objectivos do proprietário, pode-se seguir um dos planos ditados pela COBB (2007) abaixo citados (Madeira de Carvalho, 2008):

- Diariamente no alimento: Tartarato de Pirantel (apenas nos EUA).
- Mensal: Pamoato de Pirantel e BZD.
- 6-8 semanas de intervalo: Ivermectina.
- 3 meses de intervalo: Moxidectina.

Para que a desparasitação tenha sucesso, o tratamento deve ser efectuado na época adequada, tendo em conta as características do parasita em causa. Assim sendo, no Outono e no Inverno actua-se sob as formas larvares dos *estrongilídeos*, na Primavera e Verão, com o decorrer da época de pastoreio, a acção é sob as formas adultas dos *estrongilídeos* e, com a chegada da Primavera e Verão, recorre-se, novamente, a compostos adulticidas. (Lloyd, 1998). Relativamente às formas hipobióticas, o desparasitante raramente atinge valores superiores a 70%-80% de acção de eliminação parasitária. De modo a que haja um aumento dessa eficácia, a desparasitação tem de ser centralizada em março/abril e em setembro/outubro, e assim, evitamos situações de “*ciatostominose larvar*”.

#### **4.1.3. Tratamento anti-helmíntico para *ciatostomíneos***

Já referimos que todos os equídeos são susceptíveis a infecção por *estrongilídeos*, contudo, os mais jovens, quando infectados por *ciatostomíneos*, tendem a exhibir quadros clínicos mais graves que os mais velhos. Portanto, vários fármacos têm sido usados de modo a eliminar os *ciatostomíneos* que se encontram na mucosa intestinal, nomeadamente as larvas enquistadas. Os que são mais usados são o febendazol (benzamidazol) e a moxidectina, sendo a maior taxa de sucesso contra larvas enquistadas conseguida pela administração de moxidectina numa dose de 0,4 mg/kg. Estudos demonstraram que só ocorre reaparecimento de ovos 24 semanas após o

tratamento com moxidectina (Demeulenaere, Vercruysse, Dorny & Claerebout, 1997; Collobert, Bernard, Clément, Hubert, Kerboeuf, Flochlay & Blond-Riou, 1998). A administração de febendazol tem a duração de 5 dias, em que a dose pode ser de 10mg/kg/dia ou doses superiores, de acordo com o grau de envelhecimento das larvas enquistadas. Contudo, o febendazol tem demonstrado recentemente uma reduzida taxa de eficácia, o que se traduz num aumento de resistência dos ciatostomíneos e consequentemente uma diminuição da sua utilização (Reinemeyer, Farley & Clymer, 2003). Além destes dois anti-helmínticos, também se pode recorrer ao uso de ivermectina (lactona macrocíclica) numa dose 0,2 mg/kg ou 1 mg/kg apenas contra as L4 (Lyons *et al.*, 2000), uma vez que a sua eficácia é reduzida ou quase nula em formas larvares imaturas ou em larvas enquistadas L3 e L4 iniciais (Rolfe, Dawson & Holm-Martin, 1998; Nilsen, Kaplan, Thamsborg, Monrad, Susanne & Olsen, 2007; Nielson, 2009; Elsener & Villeneuve, 2009).

Em termos de intervalos entre as administrações, recomenda-se que no caso dos ciatostomíneos sejam entre 4 a 8 semanas durante o ano (Kassai, 1999). Mas os intervalos entre as administrações devem ser monitorizados, caso contrário, poderão surgir situações de resistência. O tipo de substância usada também deverá ser tida em conta, pois se recorrermos demasiadas vezes ao mesmo composto ou a compostos da mesma família vamos, possivelmente, induzir resistência dos animais ao(s) composto(s). Todavia podemos evitar essa situação se realizarmos tratamentos anti-parasitários com rotação de anti-helmínticos. Esta temática será abordada mais detalhadamente nas formas de contrariar a resistência parasitária.

#### **4.1.4. Tratamento anti-helmíntico para *Strongylus vulgaris***

No que diz respeito ao tratamento de *Strongylus vulgaris*, os benzimidazóis são fármacos de eleição, uma vez que têm actividade para combater a migração das larvas para a artéria mesentérica. Devem ser fornecidos em doses muito superiores ao que são normalmente usados em animais adultos. Assim, doses de 440 mg / kgpv de tiabendazol, 30 mg / kgpv de febendazol e 50 mg / kgpv de oxfendazol são bastante eficazes neste estágio do ciclo e, promovem uma certa acção sobre o surgimento de cólicas.



#### **4.1.5. Cuidados a ter após a desparasitação**

Durante o tratamento antiparasitário e com a finalidade de evitar complicações, há que manter os equídeos estabulados, permitindo que façam exercício ligeiro a passo, para evitar o aumento da pressão sanguínea e, por sua vez a formação de embolias. Além disso, deve-se ter em conta a actividade cardíaca do animal, sendo necessário cessar as administrações assim que se observar taquicardia, tremores musculares ou fraqueza nos membros posteriores. Os sinais clínicos se tiverem de ocorrer irão manifestar-se logo após a primeira administração e, a sua probabilidade aumenta caso a administração seja feita de uma forma rápida (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

#### **4.1.6. Controlo antiparasitário para além dos anti-helmínticos**

Além do controlo químico, podemos usar controlo biológico para “combater” os estrongilídeos, esse é realizado recorrendo à utilização de fungos nematófagos ou predadores fornecidos aos animais em associação com o alimento (Madeira de Carvalho, Gillespie, Serra, Bernardo, Farrim & Fazendeiro, 2007; Braga, Araújo, Silva, Araújo, Carvalho, Tavela, Campos & Carvalho, 2009; Sánchez-Andrade, Francisco, Cortñas, Sánchez, Francisco, Dacal, Arias, Suárez, Morrondo, Valero, López-Arellano, Mendoza de Gives & Paz-Silva, 2009). Os géneros que se destacam são os *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*, que apresentam grande eficácia nas mais diversas espécies, tais como, suínos, ovinos, bovinos e equídeos. Os fungos formam armadilhas ou redes, cujo número depende do movimento dos helmintos (Nansen *et al.*, 1986, 1988 citado por Mota, Campos & Araújo 2003). A formação das armadilhas é realizada por um sistema de hifas, que após 24 horas (Schenck & Pramer, 1975) sofrem um processo de diferenciação que lhes permite penetrar nas L3. Todo esse processo de adesão do fungo aos helmintos realiza-se por uma substância fibrilar adesiva rica em fosfatase ácida, que também promove a degradação da cutícula. A penetração, que se pensa ser resultado de uma acção mecânica (Veenhuis, Nordbring-Hertz & Harder, 1985), tem aproximadamente a duração de 1 hora e está relacionada com a presença de corpos densos ricos em enzimas, que só são detectados na 1ª hora e depois desaparecem.

Além do uso de fungos, também têm sido realizados estudos que pretendem confirmar que a utilização de taninos extraídos das plantas tem um efeito vermífugo, que dificultam o desenvolvimento larvar de helmintos. Todavia, essa hipótese ainda não

está validada (Rew, 1999; Thamsborg *et al.*, 1999; Williams, 1999 citado por Mota, 2003).

## 5. Doenças alérgicas

### 5.1. Definição de Alergia:

Alergia é toda a reacção de hipersensibilidade que ocorre aquando do contacto do ser humano/animal com materiais ou substâncias normalmente inofensivos (Tizard, 2002). Contudo, o surgimento desta hipersensibilidade está associado não só ao contacto com os alérgenos, mas também à genética do próprio animal e à desregulação do seu sistema imunitário (Marti, Gerber, Wilson, Lavoie, Horohov, Crameri, Lunn, Antczak, Björnsdóttir, Björnsdóttir, Cunningham, Schaffartzik, Svansson, Torsteinsdóttir & Wagner, 2008; Cunningham & Dunkel, 2008).

As doenças alérgicas nos equídeos têm-se tornado cada vez mais comuns e atingem principalmente o sistema respiratório, como a Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA). Todavia as hipersensibilidades cutâneas também têm vindo a aumentar, destacando-se situações de Dermatite atópica e Hipersensibilidade à picada de insectos (Oke & White, 2010).

**Tabela 1:** Os quatro tipos de hipersensibilidade e respectiva mediação (Tizard, 2002).

<b>Tipos de Hipersensibilidade</b>	<b>Mediada por...</b>
Hipersensibilidade I	Imunoglobulinas E (IgE)
Hipersensibilidade II	Imunoglobinas G e M (IgG e IgM)
Hipersensibilidade III	Imunocomplexos
Hipersensibilidade IV	Células T

De acordo com Tizard (2002), a ORVA, Dermatite atópica e a Hipersensibilidade à picada de insectos são classificadas como, hipersensibilidades do tipo I, ou seja, reacções de hipersensibilidade mediadas por IgE (Tabela 1). Outros estudos

demonstraram que a Hipersensibilidade à picada de insectos é um caso de hipersensibilidade do tipo IV embora a situação continue a ser estudada (Wagner Miller, Morgan, Hillegas, Erb, Leibold & Antczak, 2006; van Oldruitenborgh-Oosterbaan, Poppel, Raat, Boom & Savelkoul, 2009; Langner, Jarvis, Nimtz, Heselhaus, McHolland, Leibold & Droletd, 2009).

## **5.2.ORVA**

### **5.2.1. Definição ORVA**

A definição de ORVA é Obstrução Recorrente das Vias Aéreas, sendo definida por RAO, ou Recurrent Airway Obstruction, na literatura Inglesa (Moran & Folch, 2011).

### **5.2.2. Etiologia**

A etiologia de ORVA ainda está sob investigação, pois há quem defenda que ocorre por razões exclusivamente ambientais enquanto outros defendem que há uma forte interacção genética e ambiental (Gerber, Swinburne, Blott, Nussbaumer, Ramseyer, Klukowska-Rötzler, Dolf, Marti, Burger & Leeb, 2008; Scharrenberg, Gerber, Swinburne, Klukowska-Rötzler, Laumen & Marti, 2009; House, 2010).

Alguns dos factores responsáveis pelo aumento da concentração de alérgenos são (Ainswortha, Gruünigb, Matychaka, Younga, Wagnerc, Erbd & Antczak, 2003):

- Armazenamento de feno no mesmo local das “boxes” dos cavalos.
- As poeiras provenientes das camas contaminadas.
- Ventilação precária do estábulo.
- Fungos no feno e palha (*Aspergillus fumigatus*, *Thermoactinomyces vulgaris* e *Faenia rectivirgula*).

### **5.2.3. Epidemiologia**

Esta afecção pode ocorrer em equídeos de ambos os sexos, todas as raças, bem como, em todas as idades, apesar de ser mais comum em equídeos de meia-idade (7 anos) e de idade mais avançada (15 anos) (Robisson, 2001; Davis & Rush, 2002; Tilley, Sales Luís & Branco Ferreira, 2010). Pensa-se que pode haver um factor hereditário associado a esta doença, uma vez que estudos realizados demonstram que os cavalos com ORVA possuem níveis de anticorpos para o *Aspergillus fumigatus* superiores a cavalos com ausência dessa afecção, que são transmitidos à sua descendência (Scharrenberg, Gerber, Swinburne, Klukowska-Rötzler, Laumen & Marti, 2009).

#### **5.2.4. Sinais clínicos**

A primeira alteração que os proprietários tendem a notar é a tosse cuja duração pode ir até 2 meses (Davis & Rush, 2002). Destacam-se também intolerância ao exercício físico ou diminuição de performance do cavalo, epistaxis após o exercício físico (Tumova & Jahn, 2009), descarga nasal, alteração dos sons respiratórios (Davis & Rush, 2002; Léguillette, 2003) e um esforço respiratório que se evidencia através de uma linha de esforço ao nível do bordo inferior das costelas graças à hipertrofia da musculatura abdominal (House, 2010). Normalmente os sinais clínicos tornam-se mais evidentes quando os equídeos se dirigem da pastagem para estabulação permanente. Contudo existem casos em que os equídeos exibem sinais mesmo quando estão na pastagem. Neste caso a sintomatologia está associada ao pólen da própria pastagem (House 2010; Merck, 2011).

#### **5.2.5. Diagnóstico**

Para o seu diagnóstico recorre-se ao exame clínico e à história pregressa, dando ênfase ao local onde se encontram estabulados (Léguillette, 2003). De modo a confirmar o diagnóstico pode-se recorrer a: endoscopia do aparelho respiratório com lavagem broncoalveolar e Raios X (House, 2010). Relativamente aos resultados obtidos através da lavagem broncoalveolar, evidencia-se um aumento exuberante de neutrófilos e elevação do número eosinófilos e de basófilos (Tumova *et al.*, 2009). No caso do exame radiográfico, este acaba por ser de pouca utilidade, no diagnóstico diferencial, uma vez que poderá haver confusões com pneumonia intersticial, fibrose pulmonar ou com pneumonia bacteriana devido à similariedade dos padrões radiográficos (Merck, 2011; House, 2010). Todavia, torna-se importante no estadiamento da ORVA (Tilley, 2011; Tilley, Sales Luis & Branco Ferreira, 2011).

#### **5.2.6. Terapêutica, controle e prevenção**

##### **5.2.6.1. Controle ambiental**

Ainda não foi possível determinar o limite de gases nocivos, agentes infecciosos e poeiras capazes de provocar alterações respiratórias, portanto, deve-se diminuir ao máximo a exposição dos equídeos a estes agentes de modo a impedir o seu surgimento. Independentemente da medicação adoptada, o controlo ambiental é o passo mais importante para o controlo da ORVA (Robinson, 2001; Davis & Rush, 2002; Léguillette, 2003; Coue'til, Hoffman, Hodgson, Buechner-Maxwell, Viel, Wood

& Lavoie, 2007; House, 2010; Neuhaus, Bruendler, Frey, Gottstein, Doherr & Gerber, 2010; Merck, 2011).

#### **5.2.6.2. Ventilação**

Uma forma de impedir a propagação de poeiras e manter o ar nos estábulos respirável é através do uso de uma ventilação adequada (Couëtil, Hoffman, Hodgson, Buechner-Maxwell, Viel, Wood & Lavoie, 2007).

#### **5.2.6.3. Camas**

Pelo facto de ter um preço reduzido, a palha é um dos principais materiais usados nas camas dos equídeos. Contudo, tem a desvantagem de promover a propagação de poeiras e, portanto a indução de alterações respiratórias. Assim sendo, podemos recorrer a aparas de madeira. Para além das poeiras, as camas deverão estar devidamente limpas, para evitar acumulação de gases e parasitas gastrointestinais (Couëtil *et al.*, 2007).

#### **5.2.6.4. Forragem**

O feno quando embalado com uma humidade elevada torna o ambiente propício ao desenvolvimento de organismos termotolerantes e termofílicos cujo crescimento óptimo é entre 40°C e 45°C. Ao ingerirem o feno, os cavalos inalam esporos cuja concentração pode diminuir caso haja a sua secagem antes da embalagem. O processo de secagem demora entre 3 a 5 dias, até que a diminuição da humidade atinja pelo menos cerca de 10%. Todos os rolos de feno deverão ser usados, após a sua abertura, num máximo até 5 dias, promovendo a eliminação de todos os que se encontrarem sujos com terra ou com cheiro amoniacal, de modo a diminuir o risco de botulismo.

Outra alternativa consiste em fornecer um substituto do feno, como por exemplo cubos de alfafa ou então feno comercial, pois ao fazê-lo diminuimos automaticamente a quantidade quer de poeiras, quer de esporos de fungos (House, 2010).

#### **5.2.6.5. Armazenamento**

Armazenamento do feno e palha, em zonas diferentes do local onde estão as “*boxes*” dos cavalos, de modo a diminuir a probabilidade de inalação de poeiras (House, 2010).

#### **5.2.6.6. Medicação**

Recorre-se a agentes broncodilatadores e corticosteróides sistémicos para diminuir a sintomatologia associada a ORVA, nunca descuidando o manejo ambiental.

##### **5.2.6.6.1. Corticosteróides**

Apesar de promoverem a diminuição da inflamação, a administração de corticosteróides deve ser muito prudente, visto que pode causar situações complicadas como, laminites (Bailey & Elliott, 2007) e supressão da supra-adrenal (Smith, 1990; Reed & Bayly, 1998). Logo, de modo a evitar tais situações, deve-se respeitar os intervalos de tempo e a dose a administrar.

A dexametasona é o corticosteróide de eleição e é usado numa dose de 0,1 mg/kg por via intravenosa durante 2 semanas (Couëtil *et al.*, 2007). Todavia, existem outros estudos que admitem a utilização de fluticasona e beclometasona (Couëtil *et al.*, 2007), por meio de aerossóis.

##### **5.2.6.6.2. Broncodilatadores:**

Um dos broncodilatadores mais usados em cavalos é o clembentrol ( $\beta_2$ -agonista) quer pela sua capacidade na eliminação de muco (Turgut & Sasse, 1989; House, 2010) quer pela sua rápida acção, que está associada à sua elevada lipossolubilidade. Esta facilita a sua absorção no tracto gastrointestinal e consequentemente melhora a passagem na barreira hematoencefálica (Robinson, 2008). No entanto, estudos recentes demonstram que não tem eficácia em todos os cavalos, facto relacionado com a dessensibilização dos receptores  $\beta_2$  devido ao uso contínuo deste fármaco (Cunningham & Dunkel, 2008).

### **5.3. Dermatite atópica**

#### **5.3.3 Etiologia**

É caracterizada por uma reacção imunitária exuberante a determinados antígenos, que normalmente são inofensivos, mas que em certos animais dá origem a uma reacção de hipersensibilidade cutânea. Esta é considerada uma reacção de hipersensibilidade do tipo I e ocorre a produção de anticorpos aquando do contacto do organismo do animal com alérgeno. Os anticorpos IgE ligam-se aos mastócitos da derme, provocando a sua desgranulação e a libertação de mediadores de inflamação (Kobluk, Ames & Geor, 1995; Lorch, Hillier, Kwochka, Saville & LeRoy, 2001).

Apesar de a atopia ser uma doença mundialmente conhecida em equídeos, não existe qualquer ideia sobre sua prevalência/incidência (Scott & Miller, 2003). Nos anos 70, realizaram-se estudos, no Cornell University Clinic que concluíram que a dermatite atópica atingia cerca de 3,89% dos equídeos em observação. Todavia, este número não corresponde ao valor real, uma vez que não foram efectuados testes intradérmicos (TID) em todos os animais do estudo. Outro estudo realizada pela Escola de Medicina Veterinária da Universidade da Califórnia, em Davis (UCD-SVM), determinou que a idade média de início de sinais clínicos era pelos 6,5 anos de idade. Os equídeos mais atingidos eram os de puro-sangue, sendo os machos castrados mais atingidos que as éguas. Outros estudos também admitem que os Árabes têm uma predisposição para esta afecção (Scott & Miller, 2003). No entanto, como os resultados da amostra ainda não foram comparados com a população hospitalar geral, não se pode chegar a nenhuma conclusão definitiva (White, 2005).

#### **5.3.4. Sinais clínicos**

O surgimento dos sinais clínicos pode ocorrer em qualquer estação e a presença de sazonalidade dependerá dos alérgenos em causa (polén, por exemplo).

O prurido é um sinal característico de dermatite atópica e pode estar ou não associado a urticária. Inicialmente, o equídeo sente prurido bilateral na face, orelhas, tórax ventral, abdómen ou então nos membros posteriores. Estas são as regiões habitualmente atingidas, mas outras zonas também podem ser igualmente afectadas. De forma a aliviar a desconfortável sensação de prurido, eles mordem-se, pontapeiam a região abdominal e torácica, coçam-se contra árvores, vedações e paredes dos estábulos e, mais raramente, abanam a cabeça e consequentemente as orelhas. Como resultado, surge hipotricose, alopecia, escoriações, infecções bacterianas secundárias associada a lenhificação ou não da pele (Rose, 2000; Scott & Miller, 2003).

#### **5.3.5. Diagnóstico**

De modo a chegar um diagnóstico correcto de dermatite atópica há que ter em atenção principalmente a história clínica do equídeo, tanto a nível da distribuição das lesões bem como da possibilidade de um padrão sazonal do aparecimento das lesões.

O factor de grande destaque é saber quando surgiram os sinais clínicos: se for uma situação associada ao Verão coloca-se como principal possibilidade a Hipersensibilidade à picada de insectos, no Inverno poderá ser pediculose cujos

parasitas responsáveis são *Haematopinus asini* e *Bovicola (Werneckiella) equi*. Este último ectoparasita tem várias designações, tais como, *Damalinia equi*, *D. pilosus*, *Werneckiella equi*, *W. equi equi*, *Trichodectes equi* e *T. parumpilosus*) (Sorrell, Fish & Taylor, 2010; Merck, 2011). Todavia caso ocorra durante o ano todo, também pode colocar-se a possibilidade de se tratar de uma alergia alimentar, mas estas são menos comuns (Scott *et al.*, 2010).

Pode-se considerar a execução da biópsia de modo a obtermos amostras para posterior realização de exame histopatológico. A finalidade é obter resultados compatíveis com uma situação de hipersensibilidade cutânea e não propriamente de dermatite atópica, uma vez que não existem achados histopatológicos específicos dessa afecção. Assim sendo, pretende-se diagnosticar a existência de uma hipersensibilidade cutânea na qual há variáveis graus de dermatite perivascular superficial, acompanhada de linfócitos, histiócitos e eosinófilos (Gross, Ihrke, Walder & Affolter, 2005; Nóbrega, 2010). Em adição também pode existir agregados de células de Langerhans, hiperplasia das glândulas sebáceas e acantose, entre outras (Gross *et al.*, 2005; Nóbrega, 2010).

Os testes intradérmicos (TID) são principalmente realizados em equídeos não com a finalidade de chegar a um diagnóstico definitivo, mas sim para determinar os principais alérgenos responsáveis pela hipersensibilidade cutânea e, por conseguinte evitá-los. Estes testes consistem na inoculação de alérgenos (poeiras, *Candida albicans*, alfafa e amostras de árvores) (Scott *et al.*, 2010), histamina (controlo positivo) e soro fisiológico (controlo negativo) na tábua do pescoço dos equídeos, com posterior medição do tamanho das pápulas: 15 a 30 minutos pós-injecção, 4 a 6 horas pós-injecção e 1 a 2 dias pós-injecção (Rose, 2000). Contudo existem autores que consideram que a medição das pápulas deverá ser efectuada 30 minutos e 24 horas após a inoculação (Oke & White, 2010). Um dos principais factores que promove o aparecimento de falsos negativos é a medicação com glucocorticóides, anti-histamínicos e prostagéneos. Portanto, para a realização destes testes, os equídeos não poderão estar a efectuar qualquer tipo de medicação que inclua as substâncias acima mencionadas. Além disso, deverão ser efectuados por veterinários experientes na área da dermatologia, a fim de minimizar a probabilidade de erro (Scott *et al.*, 2010). Os testes cutâneos por picada (TCP), à semelhança dos testes intradérmicos (TID) têm a finalidade de identificar reacções de hipersensibilidade a certos alérgenos (pólen, alimentos, antibióticos, insectos entre os mais variados), isto é, determinar a presença de IgEs específicos a certos alérgenos. São testes de fácil execução, rápidos (reacção



20 a 30 minutos após a inoculação), baratos, induzem menor número de falsos positivos comparativamente aos testes intradérmicos (TID), bem como menor número de reacções anafiláticas (Devenney & Fälth-Magnusson, 2000; Liccardi, D'Amato, Walter Canonica, Salzillo, Piccolo & Passalacqua, 2006; Tilley, Sales Luís & Branco Ferreira, 2010). Está descrito que a probabilidade dos testes cutâneos por picada induzirem reacções anafiláticas é inferior a 0,02% (Liccardi, D'Amato, Walter Canonica, Salzillo, Piccolo & Passalacqua, 2006).

Outros testes a ter em conta são os sorológicos, nos quais se recolhe 10 ml de sangue na jugular do equídeo para um tubo de EDTA. A finalidade é averiguar a presença de IgEs contra alérgenos comuns. Os testes sorológicos comparativamente aos testes intradérmicos (TID) apresentam numerosas vantagens: não é necessário realizar nem tricotomia, nem sedação do cavalo e não são influenciados por terapêuticas medicamentosas. Porém, para além de terem elevados custos, o número de falsos positivos tem vindo a aumentar, o que torna os testes serológicos pouco indicados para o diagnóstico de dermatite atópica (Oke & White, 2010; Scott *et al.*, 2010).

### **5.3.6. Tratamento**

De modo, a diminuir o prurido e a inflamação geral da pele, recorre-se ao uso de corticosteróides, utilizando-se prednisolona, 200-400 mg / 500 kg a cada 24h, ou então dexametasona 0,05-0,1 mg / kg a cada 24h. Contudo, os corticosteróides têm várias desvantagens em termos da saúde equina, tal como promover o surgimento de laminites. Para contornarmos essa situação pode-se administrar hidroxizina pamoato (200-400 mg / 500 kg cada 12 horas) ou cetirizina (0,2 mg / kg q12 h), ambos anti-histamínicos. Esta medicação é menos eficaz que a corticoterapia e só terá efeito se associada com alterações ambientais (Scott & Miller, 2003).

## **5.4. Hipersensibilidade à picada de insectos**

### **5.4.1. Etiologia**

A Hipersensibilidade à picada de insectos ou eczema de Verão é uma dermatite alérgica cutânea com dispersão mundial e desencadeada por proteínas salivares, actualmente em estudo (Hellberg, Wilson, Mellor, Doherr, Torsteinsdottir, Zurbriggen, Jungi & Marti, 2006; Marti *et al.*, 2008; Langner *et al.*, 2009). Os causadores mais comuns são os parasitas do género *Culicoides*, destacando-se as espécies *C. variipennis* e a *C. nubeculosis* (Marti *et al.*, 2008; White, 2011). Além destas espécies,

também estão descritas as espécies *Simulium* spp. (Hellberg *et al.*, 2006), *Stomoxys* spp. e a *Haematobia* spp. (Scott & William, 2003; van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 2009a). No entanto, existe a possibilidade de certos equídeos terem hipersensibilidade a várias espécies de mosquitos (Scott & William, 2003).

De acordo com certos autores, a hipersensibilidade à picada de insectos é considerada uma hipersensibilidade do tipo I e portanto mediada por IgEs e por alguns isotipos de IgGs, mas apenas em situações agudas (Kobluk, Ames & Geor, 1995; Wagner *et al.*, 2006; Langner, Darpel, Drolet, Fischer, Hampel, Heselhaus, Mellor, Mertens & Leibold, 2008). Numa situação crónica é considerada uma hipersensibilidade IV, mediada por células T (Fadok & Greiner, 1990; Kobluk, Ames & Geor, 1995; McKelvie, Foster, Cunningham & Hamblin, 1999; Ferroglio, Pregel, Accossato, Taricco, Bollo, Rossin & Trisciuglio, 2006 citado Langner *et al.*, 2008).

#### **5.4.2. Sinais clínicos**

Neste caso, o aparecimento de sinais clínicos está intimamente relacionado com o ciclo biológico dos insectos. Os equídeos afectados por *Culicoides* spp. apresentam intenso prurido, pápulas, escoriações, alopecia e infecções secundárias por bactérias e fungos resultantes da auto-mutilação (Hellberg *et al.*, 2006; Langner *et al.*, 2009). Se a situação perdurar e se tornar crónica, ocorre lenhificação da pele. Os locais de surgimento das lesões estão associados à zona da picada dos insectos que, por sua vez, correspondem aos locais de alimentação. Estes tendem a ser preferencialmente na base da cauda, na tábua do pescoço e nas orelhas (Pascoe & Knottenbelt, 1999).

#### **5.4.3. Prevalência**

A Hipersensibilidade à picada de insectos atinge tanto fêmeas como machos havendo uma maior prevalência em equídeos com idades compreendidas entre os 3 e os 4 anos de idade (White, 2011). Hoje em dia está documentada a existência de uma predisposição hereditária associada a certas raças, tais como, Árabes, German Shire, Quarter horse, Pôneis de Connemaras, Cavalos islandeses e Puro-Sangue Inglês (Scott & William, 2003; Wagner, Miller, Morgan, Hilligeas, Erb, Leibold & Antczak, 2006). De acordo com a Cornell University Clinic, a Hipersensibilidade à picada de insectos corresponde a um total de 6,33% das doenças alérgicas dérmicas. Relativamente à prevalência mundial da doença, esta varia entre 5% e 60% (van Oldruitenborgh-

Oosterbaan *et al.*, 2009b), registando-se os valores mais elevados na Alemanha e na Austrália, respectivamente com, 29% e 32% (Scott & Miller, 2003).

#### **5.4.4. Diagnóstico**

Não existe forma de efectuar um diagnóstico preciso, por isso há que recorrer à história pregressa do cavalo, dando destaque à sazonalidade do aparecimento das lesões e possível correlação com a sazonalidade do ciclo biológico dos mosquitos. Outro método consiste na aplicação de medidas de controlo para verificar se ocorre ou não regressão dos sinais clínicos.

Apesar de terem sido realizados vários estudos intradérmicos (TID) para averiguar possíveis reacções à saliva de mosquitos do género *Culicoides*, estes não foram conclusivos (van Oldruitenborgh-Oosterbaan *et al.*, 2009a), uma vez que como a hipersensibilidade à picada de insectos pode, em situações crónicas, ser uma hipersensibilidade do tipo IV, haverá equídeos que poderão não reagir à inoculação da saliva dos mosquitos, o que dará origem a falsos negativos. Além do mais ficou demonstrado por Hampel (2007) que os mastócitos não têm uma distribuição uniforme ao longo da pele, logo o resultado de certas inoculações poderá não ser compatível com o estatuto alérgico do animal (Lagner *et al.*, 2008).

#### **5.4.5.Tratamento**

De modo a evitar a hipersensibilidade à picada de insectos há que utilizar dois tipos de medidas: controlo insecticida e uso tópico ou sistémico de substâncias antipruriginosas (Scott & Miller, 2003; Hellberg *et al.*, 2006). Relativamente ao controlo insecticida, recorre-se ao uso de redes ou telas impregnadas de insecticidas (organofosfatos) nas janelas, manutenção dos cavalos nos estábulos ao amanhecer e ao pôr-do-sol e impedir a acumulação de água e esterco na pastagem, uma vez que são os locais preferidos dos mosquitos do género *Culicoides* (Cepeda, 2010). A administração de substâncias insecticidas é primordial para a morte e eliminação dos parasitas e para tal pode usar-se deltametrina pour-on (Butox® 7,5), sendo esta “*off label*” (Cepeda, 2010; White, 2011) ou então fenvalerate 0,5% *spray* durante 7 dias (Scott & William, 2003). Porém, associado ao prurido também há inflamação, que só pode diminuir através da administração de corticosteroídes sistémicos como prednisolona a 2,2mg/kg.

Presentemente, o destaque vai para os tratamentos através de imunoterapias também conhecidas por dessensibilização, no entanto, o seu efeito ainda não está bem

esclarecido (Scott & Miller, 2003; Wagner, Miller, Morgan, Hillegas, Erb, Leibold & Antczak, 2006).

## **6. Resistência à infecção parasitária**

*“A resistência à infecção parasitária é uma área de preocupação por todo o mundo”*  
(West, 2009, p.1, tradução livre)

### **6.1. Resistência natural**

De acordo com Woolaston & Baker (1996) existem três tipos diferentes de comportamento frente às infecções parasitárias:

- Resistentes: A habilidade do indivíduo de suprimir o estabelecimento dos parasitas ou até mesmo de expulsar naturalmente as larvas.
- Resilientes: Capacidade do hospedeiro de manter os níveis de produção mesmo sob infecção parasitária.
- Susceptíveis: Inabilidade do indivíduo em controlar a infecção parasitária, apresentando perdas de produção.

O grau de infecção de um animal não está relacionado apenas com as causas já mencionadas, mas também com as características do próprio indivíduo, havendo estudos realizados em ovinos que o confirmam (Benavides, 2008). Verifica-se que há uma diferença em termos de carga helmíntica em animais da mesma espécie, da mesma raça e sujeitos às mesmas condições ambientais. É essa diferença parasitária que será preponderante para a adaptação dos mesmos. De acordo com Charles Darwin (1888), os animais mais adaptados a um determinado ambiente são os que sobreviverão e, passarão a sua carga genética à descendência (selecção natural). Portanto, o facto de animais terem maior carga helmíntica implica que irão ter maior probabilidade em terem um quadro clínico mais exuberante que os que têm uma menor carga. Supondo, que os animais com uma maior carga helmíntica morrem antes de se reproduzirem, o que acontecerá será a diminuição dos seus genes na descendência. Por sua vez, os animais com menor carga helmíntica são os mais adaptados, a sua carga genética na descendência irá aumentar.

Muitos dos estudos, demonstram que equídeos adultos têm menor número de ciatostomíneos em relação a equídeos jovens, isto quer dizer que os equídeos adquirem uma resistência, que é imunomediada à re-infecção por ciatostomíneos. Este

é um processo muito lento que só ocorre em equídeos com mais de 5 anos e que estão em constante contacto com ciatostomíneos (Klei & Chapman, 1999; Baudena, 2003).

## **6.2. Resistência a anti-helmínticos**

A desparasitação tem como objectivo a diminuição de ovos de parasitas por grama de fezes (OPG) cuja eficiência é determinada 2 semanas após o tratamento através do Método da Técnica de contagem de ovos por McMaster. O tratamento é considerado eficaz quando a contagem de ovos não excede os 100 OPG (Boersema, Eysker & Van der Aar, 1998) ou então quando a diminuição de ovos, após o tratamento anti-helmíntico, for superior a 90% (Bauer, Merkt, Janke-Grimm & Burger, 1986). Todavia, existem autores que só consideram que a desparasitação é eficiente quando a diminuição de ovos por grama é superior a 95% (Hutchens & DiPietro, 1996; Conder & Campbell, 1995).

O uso inapropriado de anti-helmínticos provoca diversas situações que leva a desparasitação insuficiente. Isso poderá advir de diversas situações como, factores de ordem económica ou sub-dosagem por erros na estimativa do peso dos animais. No entanto, há outros factores que também contribuem para o surgimento de resistências (Proudman & Matthews, 2000; Madeira de Carvalho, 2006):

- Administração de anti-helmínticos a animais com baixa contagem de ovos.
- Administração de substâncias que estavam destinadas a outras espécies (utilização “*off label*”).
- Controlo anti-parasitário em animais com helmintes de ciclos biológicos curtos.
- Utilização repetida do mesmo princípio activo durante longos períodos de tempo.

Relativamente ao último ponto, e como já foi dito anteriormente, uma forma de o contrariar é efectuar uma rotação das classes de anti-helmínticos ao longo da época de pastoreio, que será descrita mais detalhadamente nas formas de prevenção de resistências.

Outro factor que é determinante no aparecimento de resistências é a duração do ciclo biológico dos parasitas, que quanto mais curto for implica que haja uma maior probabilidade de recombinação dos alelos e, conseqüentemente, ocorrência de resistência (Murray, 2003). Este é um caso típico dos ciatostomíneos cujo ciclo biológico é de reduzida duração (5 a 6 semanas). Diversos estudos demonstram que os ciatostomíneos adquiriram resistência tanto ao pirantel como aos benzimidazóis, havendo neste último caso o reaparecimento de ovos 4 semanas após o tratamento

(Borgsteed, Dvojnos & Kharchenko, 1997; Pook, Power, Sangster, Hodgson & Hodgson, 2002; Lyons & Tolliver, 2003; Wolstenholme, Fairweather, Prichard, Samson-Himmelstjerna & Sangster, 2004; Reinemeyer, 2008). Estudos demonstram, que após o tratamento com ivermectina ocorre o reaparecimento de ovos entre 6 a 8 semanas após o tratamento (Boersema *et al.*, 1998). Existem duas possíveis explicações para esse facto: existência de larvas enquistadas ou então larvas no início do terceiro estágio larvar. No primeiro caso, a presença de quisto, que envolve as larvas enquistadas, protege a larva da acção da ivermectina (Nielsen, 2009), enquanto no segundo caso a acção da ivermectina sob larvas no início do terceiro estágio larvar é reduzida ou praticamente nula (Deprez & Vercruysse, 2003).

Todavia, certos autores admitem que pode haver uma diminuição da resistência a anti-helmínticos graças à transmissão de genes alélicos de parasitas que não foram sujeitos à acção do desparasitante durante o tratamento antiparasitário, como é o caso dos ovos, larvas na pastagem e das larvas enquistadas de ciatostomíneos. A este conjunto de parasitas dá-se a designação de *refugium* parasitário, ou seja, parasitas que ficam no refúgio (Wolstenholme, Fairweather, Prichard, Samson-Himmelstjerna & Sangster, 2004; Sousby, 2007; Jackson & Waller, 2008; Kapal *et al.*, 2010) e quanto menor ele for, maior será a transmissão, à descendência, de genes que conferem resistência anti-helmíntica (Nielsen, 2008). São os parasitas resistentes ao tratamento anti-helmíntico que são responsáveis pela existência de contaminação durante o Inverno (Hodgkinson, Freeman, Lichtenfels, Palfreman, Love & Matthews, 2005).

### **6.3. Resistência por alergias**

Vários estudos, tanto em animais como em humanos, têm vindo a demonstrar a existência de uma relação inversa entre infecções por helmintes e doenças alérgicas (Cooper, 2009).

Estudos efectuados em crianças na área do Equador, confirmaram que crianças parasitadas com *Ascaris lumbricoides* ou com *Trichuris trichiura* sofriam uma diminuição na incidência de doenças alérgicas dérmicas, enquanto crianças menos parasitadas tinham uma maior incidência de doença alérgica dérmica (Cooper, Chico, Bland, Griffin & Nutman, 2003a; Cooper, Chico, Rodrigues, Ordonez, Strachan, Griffin & Nutman, 2003b). No caso dos animais, Bründler, Frey, Gottstein, Nussbaumer, Neuhaus & Gerber (2011) compararam o grau de excreção de ovos de

estrongilídeos em equídeos com ORVA e sem ORVA, e concluíram que a eliminação era inferior em equídeos com ORVA.

Todavia, convém destacar que nem todas as pessoas e animais parasitados têm automaticamente uma diminuição da incidência de doenças alérgicas. Para que haja uma relação inversa entre as infecções parasitárias e as doenças do foro alérgico há dois pontos a ter em conta: se a infecção parasitária é aguda ou crónica e o tipo de hipersensibilidade em causa. No caso de uma infecção parasitária aguda, há a produção de IgE específicas e de eosinófilos por parte do hospedeiro em resposta à estimulação helmíntica, podendo co-existir reacções alérgicas resultantes das migrações parasitárias. Porém, quando se trata de uma infecção crónica, o cenário já é diferente, pois à medida que a infecção progride estabelece-se uma relação de adaptação entre o hospedeiro e o parasita. Nesta situação, dá-se a produção de IgE séricos policlonais, cuja acção passa pelo bloqueio dos receptores de IgE, consequentemente, impedem a produção das IgE específicas e naturalmente não irão ocorrer reacções alérgicas (Lynch, Palenque, Hagel & Diprisco, 1997; Lynch, Hagel, Palenque, Prisco, Escudero, Corao, Sandia, Ferreira, Botto, Perez & Souef, 1998; Lynch, Goldblatt & Souëf, 1999; Lynch, Goldblatt & Souëf, 1999; Else, 2005; Kamal & Khalifa, 2006; Medeiros, Silva, Rizzo, Motta, Bezerra de Oliveira & Sarinho, 2006; Neuhaus, Bruendler, Frey, Gottstein, Doherr & Gerber, 2010).

Relativamente ao tipo de hipersensibilidade, os estudos até à data têm verificado que apenas as reacções de hipersensibilidade do tipo I são as que desencadeiam o mecanismo de relação inversa entre infecção parasitária e reacção alérgica, continuando este mecanismo a ser alvo de imensos estudos.

Outra possível explicação para essa situação, é a hipótese higiénica, a qual postula que os animais com doença do foro alérgico têm um sistema imunitário extremamente exacerbado, tornando assim, o organismo do hospedeiro inóspito para o desenvolvimento parasitário (Cooper, 2009; Neuhaus, Bruendler, Frey, Gottstein, Doherr & Gerber, 2010).

## **7. Formas de contrariar a resistência parasitária**

De modo a oferecer alternativas às resistências aos anti-helmínticos anteriormente referidos, temos as seguintes soluções:

- Demonstrar através de evidências científicas (contagem de ovos pelo Método de McMaster) a eficácia dos anti-helmínticos, de modo a convencer os proprietários da sua eficiência (Murray, 2003).
- Tratamento simultâneo de todos os animais da pastagem (Coles, 2003). Todavia há autores que consideram ser necessário efectuar um tratamento selectivo para diminuir a incidência de resistências (Becher, Mahling, Nielsen, & Pfister, 2010).
- Cálculo correcto da dose de desparasitante a administrar, de acordo com o peso correcto do equídeo e, para não cometer erros, recorrer à medição do peso utilizando uma balança (Peregrine, McEwen, Bienzle, Koch & Weese, 2006).
- Só realizar a desparasitação de animais com mais de 200 OPG.
- Realização de rotação das substâncias de anti-helmínticos, que pode ser lenta ou rápida (Blaneck, Brady, Nichols, Hutcheson, Jackson, Pond & Wilson, 2006). No primeiro caso pode usar-se, por exemplo, no primeiro ano ivermectina ou moxidectina, no segundo oxibendazol e no terceiro pirantel. Depois retoma-se novamente, as avermectinas no quarto ano. A Ivermectina continua a apresentar uma boa eficácia, embora a sua utilização por via parenteral deva ser acompanhada para determinação de eventual encurtamento do Período de Reaparecimento de Ovos (PRO), situação que também deve ser seguida para a Doramectina, que aliás é uma utilização “*off-label*”. Em rotações rápidas há estudos em que se efectua a mudança de anti-helmínticos a cada 60 dias. Estudos realizados determinaram que mesmo que haja resistência a um anti-helmíntico, este pode voltar a ser usado num sistema de rotação e ter efeito (Blaneck *et al.*, 2006)
- Ter conhecimento na introdução de novos animais numa exploração ou numa coudelaria (resistências a anti-helmínticos) (Coles, 2003).
- Colocar outros animais em associação com os equídeos de modo a haver melhor gestão da pastagem e diminuição da contaminação da mesma (Kaplan, 2002; Soulsby, 2007).
- Para combater as formas enquistadas de ciatostomíneos, e como já foi anteriormente referido, deve-se centralizar a desparasitação em março/abril e setembro/outubro.

## 8. Objectivos do estudo

Os objectivos do estudo englobam dois temas distintos, visando, no entanto, apurar possíveis factores de resistência a strongilídeos em equídeos.



### **8.1. Garranos**

O estudo da epidemiologia da estrongilidose equina dos garranos centrou-se em dois núcleos localizados no ISA (Lisboa) e no PNPG (Gerês). Tivemos em conta as características individuais e as condições geoclimáticas no estudo dos seguintes parâmetros:

- Determinação do nível de parasitismo gastrointestinal nos núcleos de garranos do Gerês e do ISA ao longo dos meses (janeiro, fevereiro, março, julho, outubro e novembro) e estações em estudo (Inverno, Primavera, Verão e Outono).
- Análise da prevalência média ((nº de amostras positivas para um género ou espécie/total de amostras) x100) e abundância proporcional média ((nº total de larvas de um género ou espécie/ total de larvas da amostra) x 100) de géneros/espécies nos dois núcleos através da observação das larvas L3.
- Avaliação do grau de infecção por estrongilídeos nos dois núcleos.

### **8.2. Equídeos com hipersensibilidade alérgica e respectivos controlos**

Os equídeos com hipersensibilidade alérgica reúnem animais com sinais clínicos compatíveis com Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA), Dermatite atópica e Hipersensibilidade à picada de insectos. O objectivo final foi confirmar se a existência de doenças alérgicas promove ou não a diminuição da carga de estrongilídeos.

Portanto, avaliámos:

- O nível de parasitismo nos grupos em estudo.
- A prevalência parasitária de estrongilídeos.
- O grau de infecção de estrongilídeos.

## Capítulo VI - Material e Métodos

### 1.1 Garranos

#### 1.1.1. População alvo

##### 1.1.1.1. Caracterização do núcleo de garranos do Gerês

*“pónei é um cavalo pequeno cuja altura ao garrote não excede 1,48 m sem ferraduras, ou 1,49 m com ferraduras”* ( Federação Equestre Internacional, 2011)

Para além da sua clara dispersão ao longo do noroeste português, que inclui o PNPG, os garranos também ocupam o território galego. Nesta região espanhola há a distinção entre três sub-populações: os póneis, os galegos e os galaicos-asturianos (Madeira de Carvalho, 2001).

Actualmente a população ronda os 2000 animais, em que 1000 são fêmeas reprodutoras. Em regime extensivo, os grupos são formados por aproximadamente 20 fêmeas e um garanhão. Além da clara função reprodutiva, o garanhão também tem a função de protecção do grupo, muito necessária dado que essa região é habitada por lobos (Portas, 2011).

##### 1.1.1.2. Caracterização do núcleo de garranos do Instituto Superior de Agronomia (ISA)

O núcleo de garranos do ISA é constituído por 7 animais: 5 fêmeas e 2 machos.

Relativamente às idades, 3 das 5 fêmeas têm entre doze a onze anos, enquanto as outras 2 fêmeas e os 2 machos têm entre dois a três anos. Estão confinados numa parcela de terreno com 1 hectare. A alimentação é à base de palha de cevada e de erva existente na pastagem. Os garranos não estão vacinados, nem desparasitados.



Fig.3- Garranos do ISA (original)

### 1.2. Local de estudo e caracterização do mesmo:

#### 1.2.1. PNPG (Parque Nacional da Peneda do Gerês)

##### 1.2.1.1. Localização e Limites

O PNPG foi instituído como Parque nacional, de acordo com o Decreto de Lei nº187/71, de 8 de Maio de 1971 (Estevão, 2010). É o único lugar em Portugal que

detém esse estatuto. A sua atribuição teve em conta as suas imensas riquezas naturais e culturais. É uma das principais zonas alvo de estudos ao nível de fauna, território e animais.

O PNPG abrange uma área de 69592 hectares correspondente a cerca de 0,78% do território continental português (Estevão, 2010). Esta área engloba um total 5 concelhos e 22 freguesias na região de transição entre o Minho e Trás-os-Montes (Tabela 2) (Plano zonal, 2002 citado por Instituto da Conservação Natureza e Biodiversidade).

#### **1.2.1.2. Geologia e Geomorfologia**

Em termos geológicos, o PNPG é caracterizado pela presença de rochas graníticas hercínicas, das quais distinguimos três tipos: granitos sintectónicos, granitos tardi-tectónicos e granitos pós-tectónicos. Relativamente aos primeiros, estes caracterizam-se pela variável granularidade e pela sua localização: serra Amarela, Soajo, Peneda, regiões a Norte e Nordeste de Castro Laboreiro e entre Tourém e Covelães. Os granitos tardi-tectónicos e granitos pós-tectónicos apresentam grau de deformação variável e um grão grosseiro, respectivamente (Moreira & Ribeiro, 1991). A variedade topográfica dessa região deve-se à interacção entre as redes fluviais e a tectónica. Destacam-se zonas como serras, superfícies de aplanamento, vales de linha de fractura, circos e vales glaciários, bem como, uma grande variedade de formas rochosas. A constituição dos solos dessa região ronda os 15% de matéria orgânica e, por isso é considerado um solo muito rico (Madeira & Furtado, 1983).

#### **1.2.1.3. Relevo**

O PNPG é caracterizado por uma diversidade de altitudes, que vão de 60 metros de altitude, a nível da albufeira de Touvedo, no concelho de Ponte de Barca, até uma altitude máxima de 1 545 metros na zona da Nevosa, ao nível da Serra do Gerês (concelho de Terras de Bouro), na fronteira Norte com a Galiza. A variedade de relevo expressa-se com a existência de planaltos do Castro Laboreiro (1 340 m) e da Mourela (1 380 m). Entre esses dois planaltos existem regiões montanhosas como as serras da Peneda (1 340 m), Soajo (1 430 m), Amarela (1 350 m) e do Gerês (1 545 m). As regiões mais baixas são a albufeira da Caniçada (150 m) e a Entre-Ambos-os-Rios (50 m), nas bacias dos rios Cávado e Lima, respectivamente (Plano Zonal, 2002 citado por

Instituto da Conservação Natureza e Biodiversidade). Em termos de vales destacam-se o do rio do Gerês e do rio da Peneda (Ribeiro, 1991 citado por Estevão, 2010).

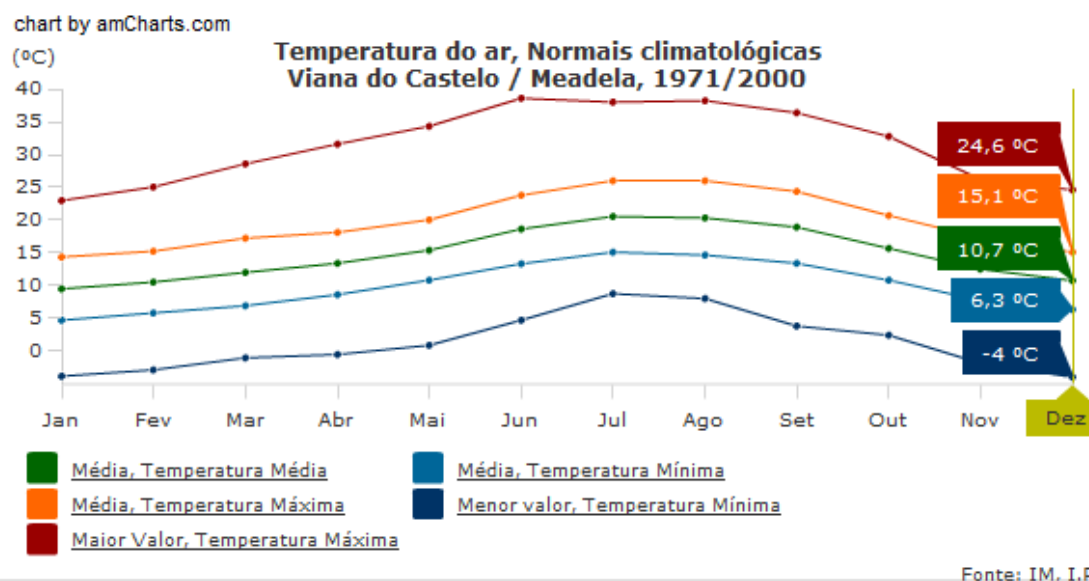
#### **1.2.1.4. Caracterização climatológica**

O PNPG está sobre a influência de três tipos de clima: o atlântico, o mediterrânico e o continental (PNPG, 1995 citado por Instituto da Conservação Natureza e Biodiversidade). Esses juntamente com a direcção do relevo promovem a formação de vários microclimas que accionam massas de ar quente e húmido, responsáveis pela elevada pluviosidade que pode atingir 3 000 mm. Por essa razão, o território do PNPG é considerado um dos mais chuvosos ao nível europeu (Peixoto, 2008 citado por Estevão, 2010; PNPG, 1995 citado por Instituto da Conservação Natureza e Biodiversidade). Além da pluviosidade, os microclimas são responsáveis pelas diferenças em termos de amplitudes térmicas e humidade, que oscilam entre 10°C e os 16°C e entre 75% e os 85%, respectivamente (PNPG, 2002 citado por Instituto da Conservação Natureza e Biodiversidade).

Em virtude da proximidade, a estação meteorológica situada na região de Braga foi seleccionada para nos fornecer os dados climáticos abaixo indicado nos gráficos. Estes dados são baseados em normais climatológicas de 30 anos (entre 1971 e 2000).

De modo, a termos uma perspectiva geral das condições climáticas na região do PNPG procedeu-se à recolha dos de valores mensais de precipitação, temperatura máxima, média e mínima dos últimos 30 anos através do Instituto de Meteorologia. Optou-se pela escolha da região de Viana do Castelo graças à proximidade que tem do PNPG. Tendo apenas em conta os meses da recolha das amostras (janeiro e abril), constatou-se que para o mês de janeiro a temperatura máxima média e mínima média, foram de 14,3°C e 4,7°C, respectivamente enquanto para abril a temperatura máxima média e mínima média foram respectivamente, 18,1°C e 8,6°C. (IM, 2011) (Gráfico 1).

**Gráfico 1:** Temperatura do ar (°C) referente ao período de 1971 a 2000 na região de Viana do Castelo, (IM, 2011).



**Tabela 2:** Precipitação total (mm), temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) referente à região de Viana do Castelo entre 2007 e 2011 (IM/MCTES, 2011).

Viana do Castelo				
Anos	Temperatura máxima	Temperatura média	Temperatura mínima	Precipitação total
2007	25,2	14,6	4,2	786,1
2008	24	14,3	5	1085,6
2009	24,6	14,5	4,3	1491,2
2010	26	14,5	5	1447,3
2011	23,8	15,1	5,8	1181,4

**Tabela 3:** Temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) referente à região de Viana do Castelo nos meses de janeiro e abril de 2011 (Weatherunderground, 2011).

Viana do Castelo			
Meses de 2011	Temperatura máxima média	Temperatura média	Temperatura mínima média
janeiro	16	11	6
abril	24	17	12

A partir da tabela 2, verificámos que os valores de precipitação no ano de 2011 foram inferiores aos registados em 2009 e em 2010. Em relação às temperaturas máximas, o ano de 2011 obteve valores mais baixos em comparação como ano de 2009 e 2010.

De modo a realizarmos um estudo mais detalhado do ano de 2011, recolheram-se dados relativos à temperatura máxima média, média e mínima média para os meses de janeiro e abril (Tabela 3). Verificou-se que os valores mais elevados de temperatura máxima média, temperatura média e temperatura mínima média ocorreram no mês de abril (Tabela 3).

### 1.3.2. Instituto Superior de Agronomia (ISA)

#### 1.3.2.1. Localização e Limites

O ISA localiza-se na cidade de Lisboa na Tapada da Ajuda a 38° 42' N de latitude, 9° 10' W de longitude e a 60 metros de altitude (Vasconcelos, 2011).

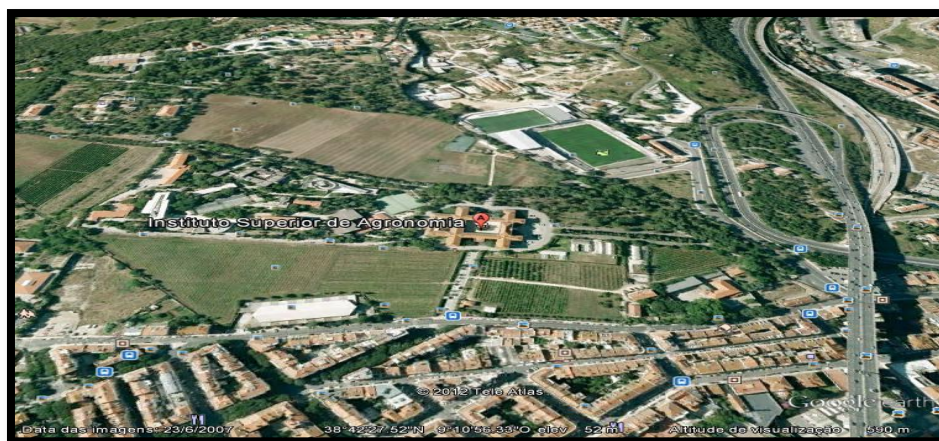


Fig.4-Localização do ISA (Google Maps)

### 1.3.2.2. Geologia e Geomorfologia

O solo do ISA possui granito e basalto, sendo esta rocha a mais abundante. A textura dos solos varia entre média e fina, sendo esta a particularidade que permite o aumento de retenção de água (M. Madeira comunicação pessoal, 20 de Outubro de 2011).

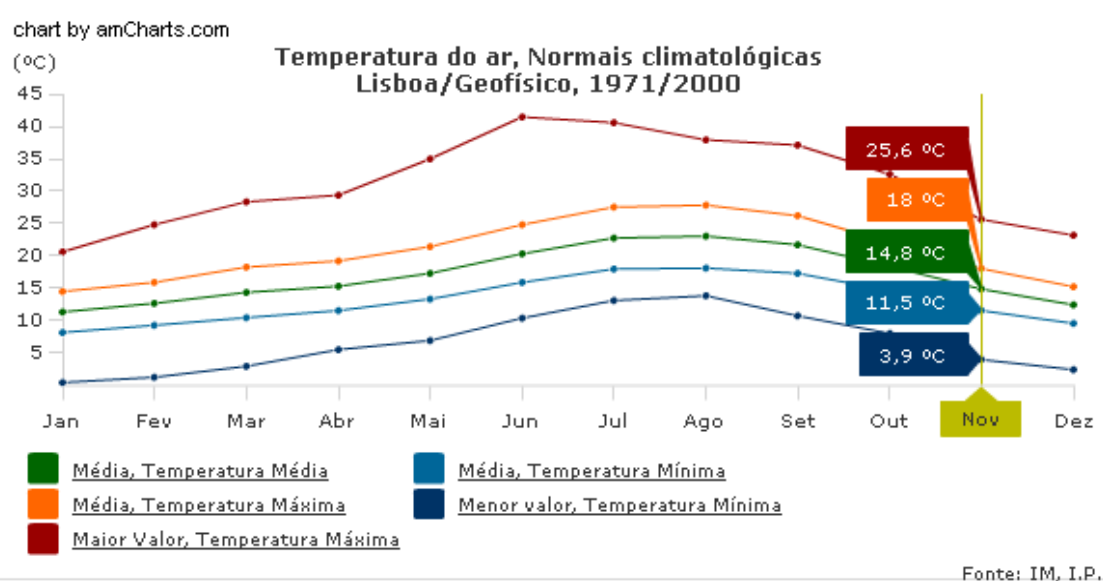
### 1.3.2.3. Relevo

O coberto vegetal tem uma grande variedade, compreendendo aglomerados de árvores dos géneros *Cupressus*, *Pinus*, *Quercus* e *Ulmus*.

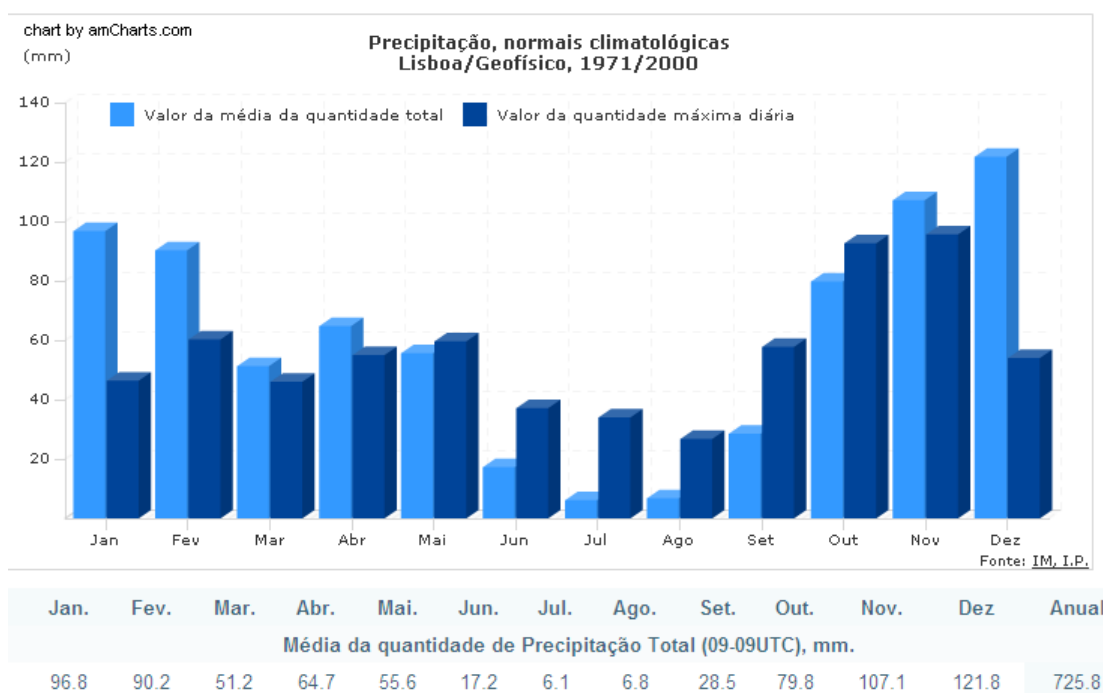
Nas parcelas a Norte da Tapada, podem ser encontrados três espécies diferentes de *Eucalyptus*: *E. camaldulensis*, *E. diversicolor* e *E. botryoides*. A noroeste, na Mata Chafariz há apenas *E. globulus*. Em qualquer uma destas duas zonas está associado um extracto arbustivo e/ou herbáceo, onde encontram-se *Oxalis pes-caprea*, *Orobanche* sp., *Viburnum tinus*, entre outras. A oeste do Observatório Astronómico, mais precisamente na Terra dos Pinheiros e no Pinhal de Junot, destaca-se a presença de *P. pinea*, enquanto na Terra do Moinho e na Mata do Carrascal há várias manchas de *P. halepensis*. Junto ao Observatório Astronómico há uma pequena quantidade de *Pinus* spp.. Na Cova do sobreiro, junto ao edifício da geradora há uma mancha de *Q. suber* pertencente ao género *Quercus*, mas a espécie mais encontrada em três manchas é *C. lusitânica* (Cunha & Magalhães, 2002)

### 1.3.2.4 Caracterização climatológica

**Gráfico 2:** Temperatura do ar referente ao período de 1971 a 2000 na região de Lisboa (IM, 2011).



**Gráfico 3:** Precipitação referente ao período de 1971 a 2000 na região de Lisboa (IM, 2011).



De modo a obtermos um panorama geral das condições climáticas, obtemos através da estação meteorológica nº 535 que se localiza a uma latitude de 38°43'N, longitude de 09°08'W e a 77 metros de altitude na região de Lisboa, os dados referentes a temperatura e precipitação dos últimos 30 anos (Gráfico 2 e Gráfico 3). O estudo



decorreu num período de 6 meses, em que os meses mais quentes registados foram julho (40,6°C) e outubro (32,2°C). Desde janeiro até março verificou-se um aumento da temperatura média mínima, que atingiu valores inferiores em janeiro (0,4°C) comparativamente com fevereiro (1,2°C) e março (2,9°C) (Gráfico 2) (IM, 2011). Em termos de precipitação, verifica-se através do gráfico 3, que o valor da média da quantidade total de precipitação atinge valores mais elevados nos meses de Inverno (janeiro, fevereiro, março), diminuindo nos meses de Verão (junho, julho, agosto, setembro) e voltando a aumentar nos meses de Outono (outono, novembro e dezembro). Relativamente aos meses de Outono, como o mês de dezembro não faz parte do nosso estudo, verifica-se que o valor da média da quantidade total de precipitação é atingido no mês de Novembro (107,1 mm).

**Tabela 4:** Precipitação total (mm), temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) do ar referente à região de Lisboa entre 2007 e 2011 (IM/MCTES, 2011).

Lisboa				
Anos	Temperatura máxima	Temperatura média	Temperatura mínima	Precipitação total
2007	27,5	17,3	13,5	963,6
2008	27,1	17,3	13,5	529
2009	29,2	18,1	14,1	821
2010	31,2	17,7	13,5	987,3
2011	28	18,2	14,1	1598

**Tabela 5:** Temperatura do ar máxima (°C), média (°C) e mínima (°C) do ar referente à região de Lisboa nos meses de janeiro, fevereiro, março, julho, outubro e novembro de 2011 (Weatherunderground, 2011).

Lisboa			
Meses de 2011	Temperatura máxima média	Temperatura média	Temperatura mínima média
janeiro	17	11	6
fevereiro	16	12	8
março	18	14	10
julho	26	22	19
outubro	24	20	14
novembro	18	14	9

Através dos dados do gráfico 3, constatou-se que em termos de precipitação o ano de 2011 obteve valores superiores aos registados nos últimos 5 anos (1598 mm).

Recorrendo aos dados da estação estação ILISBONA1, localizada na Amadora (Lisboa), verificámos que os valores mais elevados de temperatura máxima média foram atingidos no mês de julho e outubro, com respectivamente, 26°C e 24°C (Tabela 5). O mês mais frio foi o mês de janeiro com temperatura média de 11°C e temperatura mínima média de 6°C.

#### 1.4. Equídeos com doença alérgica/ controlos

##### 1.4.1. Constituição dos grupos com hipersensibilidade alérgica e respectivos controlos:

O estudo baseou-se em amostras fecais de 43 animais divididos em três grupos distintos. A divisão teve em conta dois parâmetros: presença ou ausência de hipersensibilidade alérgica e o tipo de hipersensibilidade alérgica. Portanto, realizou-se a seguinte divisão:

- Grupo A: controlo ou animais sem doença alérgica ( $n=19$ ).
- Grupo B1: Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA) ( $n=10$ ) e com Dermatite atópica ( $n=4$ ).
- Grupo B2: Hipersensibilidade à picada de insectos ( $n=10$ ).

A caracterização dos grupos teve como base um conjunto de métodos com vista a realizar um diagnóstico correcto. Há que referir que a caracterização e o diagnóstico

foram efectuados noutro estudo (Tilley, 2011). Relativamente aos equídeos com ORVA, o diagnóstico foi executado recorrendo ao exame clínico, Raios x e lavado broncoalveolar/broncoscopia. O diagnóstico dos animais com dermatite atópica foi realizado pelo exame clínico, histopatologia e biópsia. E finalmente, os com Hipersensibilidade à picada de insectos foram diagnosticados recorrendo ao exame clínico e à história pregressa.

#### **1.4.2. Desparasitação e Vacinação**

Considerámos como não desparasitados (ND) e não vacinados (NV), todos os equídeos cujo atraso nas respectivas administrações fosse de 1 ano ou mais. Através da tabela 2 constata-se que a maior parte dos animais do grupo B1/A encontram-se não desparasitados e não vacinados, enquanto todos os equídeos do grupo B2/A estão não desparasitados e não vacinados.

Em relação aos animais desparasitados, temos a “Lina” e o “Pónei.1” cujo princípio activo foi a Ivermectina (Ivomec®); a “Negra” e o “Junon” foram desparasitados com uma associação de Ivermectina com Pamoato de Pirantel e com Praziquantel (Equinox®); finalmente o “Equador”, a “Queleoa” e a “Icoka” foram desparasitados e Ivermectina (Eqvalan®).

#### **1.4.3. Raça e Sexo**

Relativamente às raças, o grupo B2 é constituído apenas por Lusitanos enquanto o grupo A e B1 inclui Árabes e Cruzados- Portugueses. Em relação ao sexo, o grupo A é constituído por 9 machos e 10 fêmeas, o grupo B1 por 8 fêmeas e 6 machos e finalmente, o grupo B2 por 10 fêmeas.

#### **1.4.4. Características dos equídeos na Coudelaria de Pegões**

Os equídeos do grupo B2 e do grupo A que pertencem a esta coudelaria integram um total de 90 equídeos. Encontram-se em pastoreio livre ao longo de 122 hectares. A sua alimentação é à base da erva da pastagem e concentrado fornecido ocasionalmente.

**Tabela 6:** Nomes, idades, proprietários, vacinação e desparasitação referentes ao grupo B1 e respectivos controlos do grupo A.

Grupo A	Idade*	Grupo B1	Idade*	Proprietário	Vacinação	Desparasitação	Local
Pónei 1	4	Lina	14	Malveira	NV	D	“boxe”
Pónei 2	3	Sultão	9	Castanheira do Ribatejo	NV	ND	“boxe”
Amigo do Udiato	10	Udiato	10	Alenquer	NV	ND	“boxe”
Junon	8	Negra	15	Torres Vedras	NV	D	“boxe”
Campos	4	Infante	21	Caldas da Rainha	NV	ND	“boxe”
Equador	2	Queleoa	12	Alenquer	NV	D	PM**
		Icoka	10				
Vida	10	Tucha	12	Oureças	NV	ND	“boxe”
		Ortigão	31				
		Matilda	12				
Vizigoto	2	Estrela	20	Rio do Mouro	NV	ND	“boxe”
		Suprema	12				
Orium	9	Oasis	13	Lusitano_Abrantes	NV	ND	“boxe”
Etrusca	1	Marquês	18	Terrugem-Sintra	NV	ND	PM**

\*idade em anos ; \*\* PM =pastoreio misto

**Tabela 7:** Nomes e idades dos equídeos do grupo B2 e respectivos controlos do grupo A localizados em Pegões.

Grupo A	Idade*	Desparasitação /Vacinação	Grupo B2	Idade*	Proprietário	Local	Desparasitação /Vacinação
Vistosa	9	ND**/NV***	Janota	20	Coudelaria em Pegões	Pastoreio	ND**/NV***
Zambezi a	7		Lagosta	19			
Zafra	7		Samarra	12			
Doida	3		Camomila	4			
Divina	3		Diana	3			
			Condessa	4			
Refinada	13		Echarpe	2			
Traquina	11		Frontera	1			
Eólica	25		Freetown	1			
Morango	16		Fina	1			

\*idade em anos; ND\*\*= não desparasitado; NV\*\*\*= não vacinado

## 2. Método de colheita das amostras e número das mesmas

A colheita das amostras fecais foi realizada em três locais distintos:

- Parque Nacional da Peneda-do-Gerês (PNPG).
- Instituto Superior de Agronomia de Lisboa (ISA).
- “Boxes” dos cavalos de proprietários privados dispersos pela região centro de Portugal Continental.



Fig.5- Colheita de fezes no Gerês (original)

### 2.1. Garranos do Gerês

A colheita das fezes dos garranos do Gerês foi realizada ao longo da Serra da Peneda do Gerês, mais propriamente nas Terras de Castro Laboreiro, Santo António Mixões da Serra, Lamas Carris, Prados de Amoreiras

e Lamas de Mouro. A colheita foi realizada a 25 de janeiro, 12 de abril e 13 de abril com respectivamente, 7, 17 e 15 amostras, perfazendo um total de 39 amostras.

A selecção das fezes no campo foi efectuada tendo em conta o grau de frescura. Na colheita foram usados sacos de plástico limpos de modo a diminuir a probabilidade de contaminação das amostras por resíduos. Retirou-se a amostra da parte central do bolo fecal, evitando ao máximo incluir detritos do solo. Após o fecho dos sacos, realizou-se a identificação dos mesmos com data, local e respectivo número da amostra.

As amostras foram depois encaminhadas para o laboratório do PNPG onde permaneceram em refrigeração a 4°C. Logo que foi possível foram transportadas em geleiras com termoacumuladores, para o laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária, UTL em Lisboa, onde foram logo examinadas.

## **2.2. Garranos do ISA**

O método de selecção e colheita das fezes foi idêntico ao efectuado no Gerês. Foram colhidas 7 amostras referentes aos 7 garranos a 29 de janeiro, 28 de fevereiro, 23 de março, 13 de julho, 6 de outubro e 10 de novembro. Todavia, a vantagem da colheita de fezes dos garranos do ISA deveu-se ao facto dos equídeos estarem restritos a um espaço de 1 hectare, o que tornou a recolha mais fácil. A outra vantagem, deve-se à proximidade do ISA do laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária, que permitiu que a análise das amostras fosse realizada pouco depois da colheita. Após a colheita as fezes foram armazenadas numa caixa térmica com termoracumuladores e, de seguida encaminhadas para laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UTL, em Lisboa, para análise posterior.

## **3. Métodos e técnicas laboratoriais**

Os métodos utilizados ao longo do nosso estudo incluem métodos coprológicos, biópsia, exame histopatológico e análise estatística.

### **3.1. Métodos coprológicos**

#### **3.1.1. Método quantitativo**

Este método tem como objectivo a contagem de ovos para possível conclusão da existência de parasitas adultos (Zanjac & Conboy, 2006).

### 3.1.1.1. Método de contagem de ovos de McMaster

O primeiro passo é colocar em cada um dos copos, correspondente a cada amostra, o total de 28 ml de solução saturada de sacarose. De seguida, e usando uma seringa, adicionámos a cada um dos copos 2 gramas de fezes, que foram anteriormente homogeneizadas. Para facilitar a homogeneização podemos recorrer a ajuda de utensílios, uteis quando as fezes são consistentes (fezes de poldro) ou uso das mãos. Após termos adicionado a cada um dos copos as 2 gramas de fezes, iremos ter em cada copo 30 ml, que depois de misturar e homogeneizar a suspensão, com o auxílio de uma vareta, filtra-se o conteúdo com um coador de modo a obtermos apenas o líquido resultante da homogeneização das fezes com a solução saturada. De seguida, colocámos esse líquido em cada uma das câmaras de McMaster e, deixámo-las repousar por um total de 5 minutos para depois observarmos ao M.O..

Procedeu-se à contagem do total de ovos nas duas células da câmara de McMaster e de seguida multiplicou-se este valor por 50, o limite mínimo de detecção para estas quantidades de solução saturada de fezes. Assim obtivemos o total de ovos cujo valor é expresso em ovos por grama de fezes (OPG) (Madeira de Carvalho, Silva Meireles & Pereira da Fonseca, 2009).

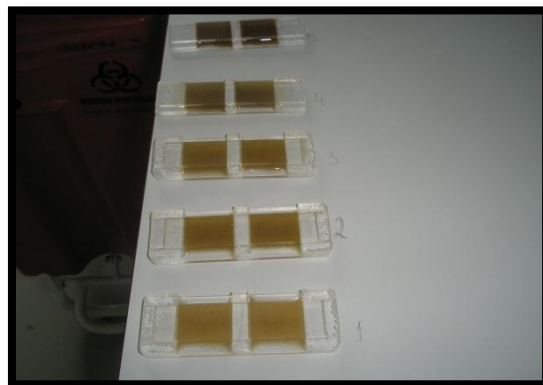


Fig.6- Câmaras de Masters (original)

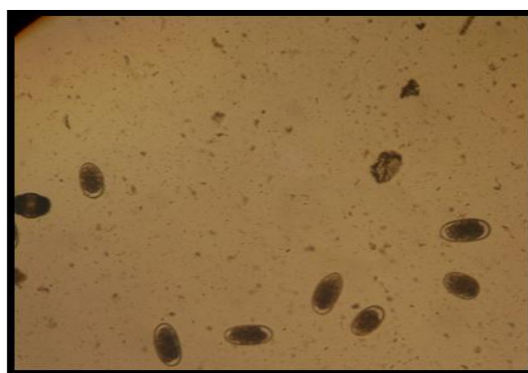


Fig. 7- Ovos de strongilídeos, ampliação 100x (original)

### 3.1.2. Método qualitativo

O método qualitativo tem o objectivo de diferenciar os diferentes tipos de ovos de acordo com a sua densidade. Os ovos que são observados são os que têm menor densidade (entre 1,20 e 1,10) e são os ovos de nemátodes e céstodes (Zanjac & Conboy, 2006).



Fig.8- Tubos com conteúdo fecal para Método de flutuação pela Técnica de Willis (original)

#### 3.1.2.1. Método de flutuação pela técnica de Willis

O líquido filtrado, referido acima no método de McMaster e que sobrou da execução deste método, é vertido para o interior de tubos de 10 ml e no topo de cada um dos tubos é colocada uma lamela. Após 10-20 minutos retirámos a lamela e colocámo-la numa lâmina para posterior observação ao M.O., utilizando uma ampliação de 100x. Dado a similaridade entre os ovos das diferentes espécies da Família Strongylidae, considerámos os ovos visualizados como sendo ovos de estrongilídeos (Madeira de Carvalho *et al.*, 2009).

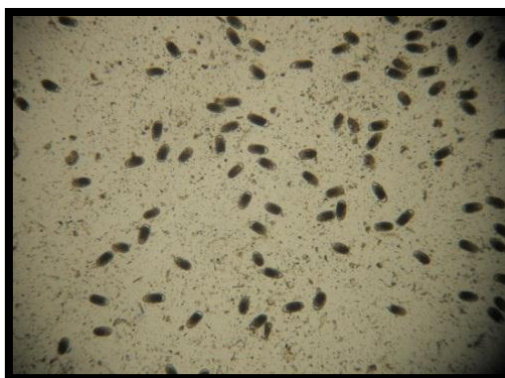


Fig.9- Ovos de estrongilídeos, ampliação 50x (original)

#### 3.1.2.2. Sedimentação

A sedimentação é um método que tem como objectivo a observação de ovos de tremátodes cuja densidade alterna entre 1,30 e 1,35 (Zanjac & Conboy, 2006)

Para a realização desta técnica, usámos a solução utilizada no Método de flutuação da técnica de Willis. Removeu-se o sobrenadante e adicionámos 1 a 2 gotas de corante Azul-de-Metileno a 5%. De seguida, utilizando uma pipeta retirámos uma gota da mistura, colocámo-la numa lâmina com uma lamela e observámo-la

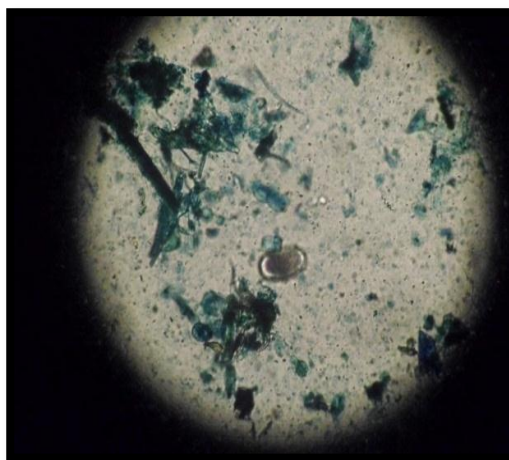


Fig.10- Técnica de Sedimentação com ovos de EGI com ampliação 100x (original)



ao M.O. utilizando uma ampliação de 100x. Por vezes é possível encontrar ovos de estrongilídeos, por aprisionamento dos mesmos nos detritos fecais (Madeira de Carvalho *et al.*, 2009)

### 3.2. Diagnóstico por coprocultura

Como já foi anteriormente referido, os equídeos são animais que apresentam uma grande diversidade de estrongilídeos no seu intestino. Logo, é muito difícil realizar uma distinção dos mesmos tendo em conta apenas as características dos ovos. Para contornar essa situação, recorre-se à técnica de ROBERTS & O'SULLIVAN (1950) cujo objectivo consiste em identificar os diferentes géneros e espécies de estrongilídeos com base nas diferentes características das larvas infectantes (L3) através da realização de coproculturas. Assim, de acordo com Madeira de Carvalho *et al.* (2009b), de modo a obtermos L3, recria-se em laboratório as condições ideais de temperatura e humidade para que ocorra o desenvolvimento.

#### 3.2.1. Método de ROBERTS & O'SULLIVAN

O primeiro passo consiste em colocar as fezes no interior de copos de plástico devidamente identificados com a data, a identificação do animal e o peso da amostra. Depois, com o auxílio de uma vareta, realiza-se um orifício no centro das fezes de modo a permitir a oxigenação das mesmas. Selámos os copos com folhas de alumínio nas quais realizámos várias perfurações com a finalidade promover a oxigenação, primordial no desenvolvimento das L3.

As amostras fecais são depois encaminhadas para a estufa ISCO® (modelo FTD250/ORO/SE) onde permanecem durante 14 dias a uma temperatura de 26-27°C e humidade de 70%-80%. De modo, a permitir a

manutenção da humidade, o recipiente com os copos das amostras fecais deverá ter água no seu interior. Ao 14º dia retirámos os copos da estufa, adicionámos água e invertimos o copo para uma placa de Petri, onde permanece num máximo de 24 horas.



Fig.11-Preparação das coproculturas (original)



Fig.12- Coproculturas na estufa ISCO® (originais)

Após este período, verte-se o conteúdo líquido da placa de Petri para o interior de um tubo de 10 ml, previamente identificado. Depois de serem selados com Parafilm®, os tubos são guardados à temperatura de refrigeração (4°C) para observação do conteúdo e identificação das L3.

Para identificação e contagem das L3 podemos optar por duas vias: ou esperamos que as L3 sedimentem naturalmente ou então procedemos à redução de volume com posterior centrifugação durante 3 minutos a 1500-2000 r.p.m.. De seguida, retirámos uma gota de 500 µl e colocámo-la entre lâmina e lamela para observação ao M.O.. Utilizámos uma ampliação de 50x para contagem das larvas e uma de 100x para identificação do formato e número das células intestinais. Porém, a identificação poderá ser difícil devido ao facto das larvas estarem em constante movimento. Uma das alternativas é colocar uma gota de soluto de Lugol que permite a diminuição dos movimentos e consequentemente facilita a observação. Uma das desvantagens desta solução é promover a degeneração das estruturas internas larvares e portanto impedir uma identificação correcta das mesmas. Assim que colocámos a gota de soluto de Lugol deve-se proceder à identificação o mais rápido possível (Ueno & Gutierrez, 1983). A identificação dos strongilídeos é efectuada de acordo o número e forma das células intestinais, tamanho da larva, presença ou não de bainha (Madeira de Carvalho, 2000; Madeira de Carvalho *et al.*, 2004, 2007, 2008).

### 3.3. Métodos de concentração das larvas de nemátodes através do Aparelho de Baermann

O objectivo deste método é a identificação de helmintes pulmonares pelo isolamento da larva L1 (*Dictyocaulus* spp. neste caso particular).

O método consiste em colocar uma determinada quantidade de fezes no centro da gaze e, de seguida sobre um tamis. Esse por sua vez é colocado sobre um funil de vidro. Deve-se selar bem esse sistema através do uso de uma mola metálica num tubo de borracha e encher



Fig.13- Aparelho de Baerman com fezes

o funil com água de modo a embeber o pedaço de gaze. Deverá permanecer durante 12 a 24 h, não deixando que o nível da água diminua. Após o tempo previsto, recolhemos

10 ml do conteúdo do funil, através da abertura da válvula metálica, centrifugámo-lo durante 3 minutos a 1500-2000 r.p.m., eliminámos os 9 ml de líquido e homogenizámos a restante parte. De seguida, aspirámos algumas gotas com a pipeta, colocámo-las entre lâmina e lamela e examinámos ao M.O. utilizando uma ampliação de 100x (Kassai, 1999). O seu funcionamento baseia-se na grande mobilidade das larvas devido ao seu fototropismo na água (Ueno & Gutierrez, 1983).

### 3.4 Biópsia

Para a realização desta técnica é necessário anestésico local (lidocaína a 1%), lâmina de bisturi, biótomo, pinça e fio de sutura. Antes de efectuar a recolha, administra-se 1 ml a 2 ml de lidocaína a 1% no tecido subcutâneo, mais propriamente na periferia do local desejado e, espera-se 2 a 5 minutos para que anestésico actue. A selecção das lesões deve obedecer aos seguintes requisitos: a recolha deve incluir



Fig.14-Biopsia com biótomo (retirada do Pratical Equine Dermatology, 2003)

exclusivamente tecido lesado, as lesões devem ser primárias e não podem ter sido submetidas a administração medicamentosa (Lloyd, Littlewood, Craig & Thomsett, 2003). Depois procede-se à realização de movimentos circulares com um biótomo na área pretendida (ao nível da garupa e tábua do pescoço) e remove-se a região lesada colocando-a num tubo. A esterilidade dos recipientes e dos materiais que contactam com a amostra é muito importante, para que não ocorram contaminações. No local da excisão, deve-se evitar o contacto com ligamentos, nervos e vasos sanguíneos. Após a sutura com pontos de U e fio de nylon 2, desinfectámos os locais de excisão com clorohexidina (Lloyd *et al.*, 2003).

As amostras foram encaminhadas para o laboratório de Anatomia Patologia da Faculdade Medicina Veterinária para serem analisadas.

### 3.5. Exame histopatológico

O material que é usado neste exame é obtido através de biópsia, anteriormente referida. O que se pretende, e como foi mencionado no diagnóstico de dermatite

atópica, é confirmar a existência de linfócitos, histócitos e eosinófilos. Pode também constatar-se a existência de hiperplasia de glândulas sebáceas, acantose e agregados de células de Langerhans. Todos esses achados são compatíveis com uma hipersensibilidade cutânea (Gross *et al.*, 2005, Nóbrega, 2010).

### **3.6. Análise estatística**

Para organização e armazenamento dos dados recorreu-se ao programa Microsoft Excel 2010®. Posteriormente o cálculo das médias de OPG e de L3/ grama dos garranos do ISA e do Gerês foi efectuado por meio do *software* R 2.13.0 2011®. A percentagem de animais com diferentes graus de infecção foi calculada por meio do teste *post-hoc* de Tukey, da biblioteca *commander* da plataforma de cálculo R (2.13.0). As prevalências e abundâncias foram calculadas com base nos resultados positivos obtidos para as espécies em estudo. A comparação das prevalências dos dois grupos foi executada recorrendo ao teste ANOVA na biblioteca *commander* da plataforma de cálculo R (2.13.0), sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas quando *p-value* for inferior a 0,05.

Para o estudo dos equídeos com alergia e respectivos controlos efectuámos a conversão dos dados a logaritmo de base 10 com a finalidade de tornar a distribuição dos dados o mais normal possível. De modo a comparar a média do logaritmo de OPG e a média do logaritmo de L3/grama dos três grupos, utilizámos o teste ANOVA na biblioteca *commander* da plataforma de cálculo R (2.13.0). As abundâncias, as prevalências e os diferentes graus de infecção foram calculados da mesma forma que a acima referida.

Todos os testes estatísticos cujo *p-value* for inferior a 0,05 são considerados como estatisticamente significativos.

### **3.7. Rendimento das coproculturas**

O seu cálculo é efectuado através da divisão da quantidade de L3 (por grama) pelo valor de OPG determinado pela técnica de MacMaster e posterior multiplicação por 100, para obtenção deste valor em percentagem (Madeira de Carvalho *et al.*, 2009b). A finalidade de determinar este princípio é verificar qual a percentagem de ovos, determinados pela técnica de MacMaster, conseguiu atingir o estado L3.

## Capítulo III – Resultados

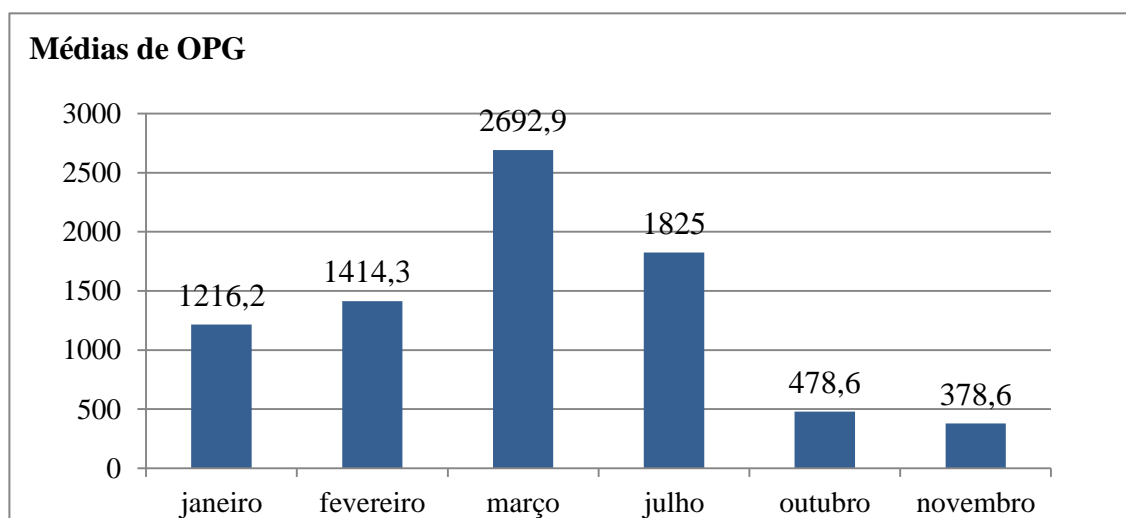
### 1. Garranos

#### 1.1. Garranos do ISA

No nosso estudo considerámos que os meses de janeiro, fevereiro e março correspondiam ao Inverno, julho ao Verão e outubro e novembro ao Outono.

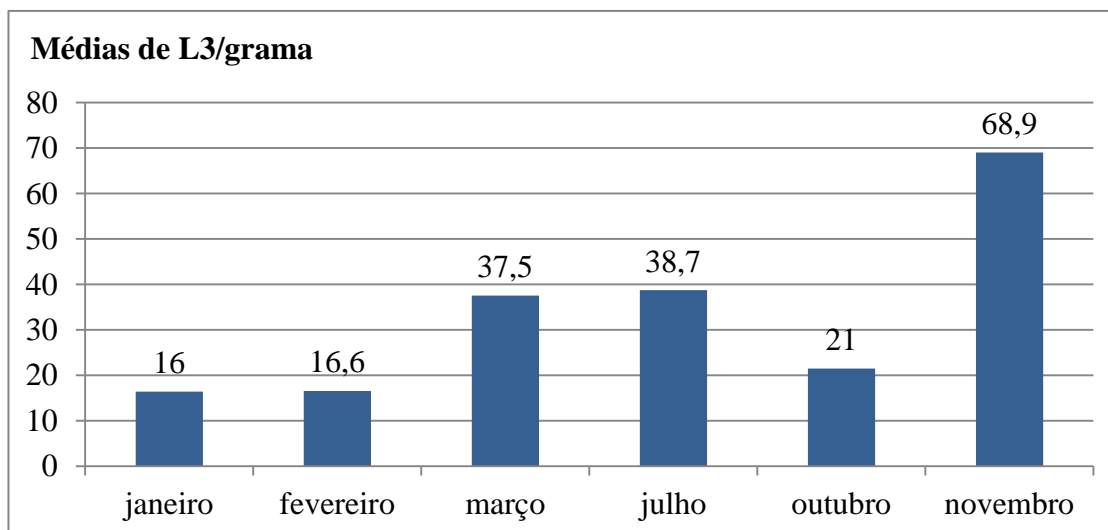
Através dos dados obtidos (Gráfico 4) verifica-se que ocorreu um aumento progressivo da eliminação de ovos de *strongilídeos* desde o janeiro até julho, coincidindo com a passagem do Inverno-Primavera ao Verão. Além disso os picos de eliminação de ovos que correspondem aos meses com maior média de OPG foram registados em março ( $x=2692,9$ ;  $\sigma=1781,7$ ) e em julho ( $x=1825$ ;  $\sigma=1781,7$ ). A partir de julho, verificou-se uma diminuição progressiva coincidente com os meses de Outono, isto é, outubro ( $x=478,6$ ;  $\sigma=513,9$ ) e novembro ( $x=378,6$ ;  $\sigma=664,5$ ). A média de eliminação de OPG no decorrer dos 6 meses em estudo foi de 1334,3 OPG.

**Gráfico 4:** Média de OPG referente aos garranos do ISA de janeiro a novembro de 2011.



O mês de novembro foi o que apresentou uma maior média de L3/grama ( $x=68,9$ ;  $\sigma=90,7$ ), seguindo-se o mês de julho e março com respectivamente, 38,7 OPG ( $\sigma=50,8$ ) e 37,6 OPG ( $\sigma=40$ ). Em relação, aos meses com menor média de L3/grama destacam-se janeiro ( $x=16$ ;  $\sigma=11,3$ ), fevereiro ( $x=16,6$ ;  $\sigma=22,1$ ) e outubro ( $x=21$ ;  $\sigma=21,1$ ) (Gráfico 5).

**Gráfico 5:** Média de L3/grama referente aos garranos do ISA para 6 meses de estudo em 2011.



Em termos de grau de infecção verifica-se que os valores obtidos (Tabela 8) para a infecção fraca e elevada foram semelhantes, sendo estes respectivamente 47,6% e 45,2%. Portanto das 42 amostras, 20 apresentaram valores abaixo de 450 OPG, o que coincide com uma infecção fraca e 19 amostras apresentaram valores superiores a 1000 OPG (infecção elevada). Para a infecção média o valor foi bem inferior às restantes duas, visto ser apenas de 7,1%, isto é, apenas 3 amostras apresentaram valores entre 450-1000 OPG (Tabela 8).

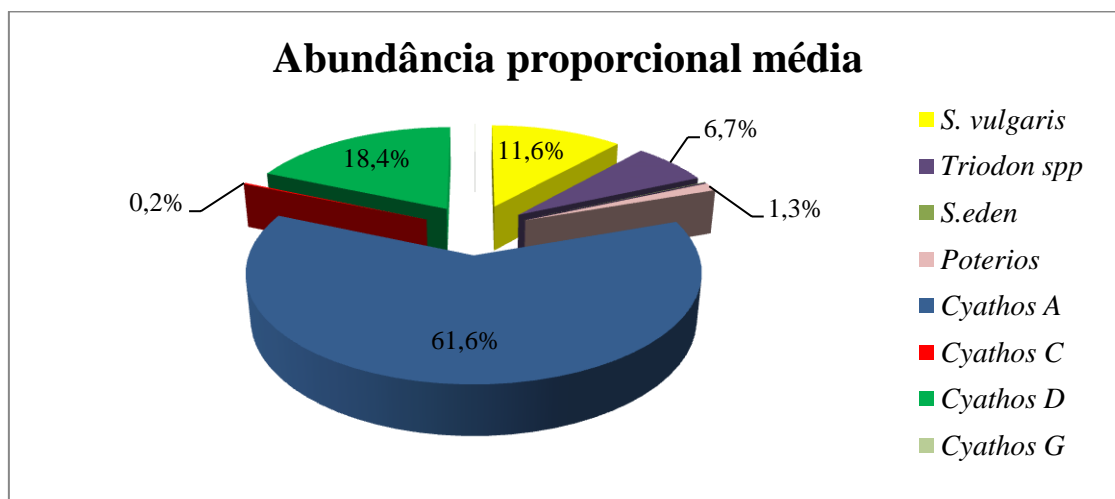
**Tabela 8:** Frequência, em percentagem (%) e número de amostras, relativamente ao grau de infecção dos sete garranos do ISA no decorrer dos 6 meses em estudo.

	Frequência (nº)	Frequência (%)
Infecção Fraca*	20	47,6
Infecção Média**	3	7,1
Infecção Elevada***	19	45,2

\*infecção fraca <450 OPG; \*\*infecção média 450 <OPG< 1000 OPG; \*\*\*infecção elevada > 1000 OPG

Em relação às abundâncias proporcionais médias (Gráfico 6), destacam-se as larvas do género *Cyathostomum* A e D com valores mais elevados, sendo estes, respectivamente, 61,6% e 18,4%. As outras duas espécies mais abundantes são as larvas de *Strongylus vulgaris* (11,6%) e *Triodontophorus* spp.(6,7%).

**Gráfico 6:** Abundância proporcional média (%) das espécies de estrongilídeos identificadas nos garranos do ISA.



*S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; *Triodon*=*Triodontophorus* spp.; *S.eden*=*Strongylus edentatus*; *Poterios*= *Poteriostomum* spp.; *Cyathos A*= *Cyathostomum A*; *Cyathos C*= *Cyathostomum C*; *Cyathos D*= *Cyathostomum D*; *Cyathos G*= *Cyathostomum G*.)

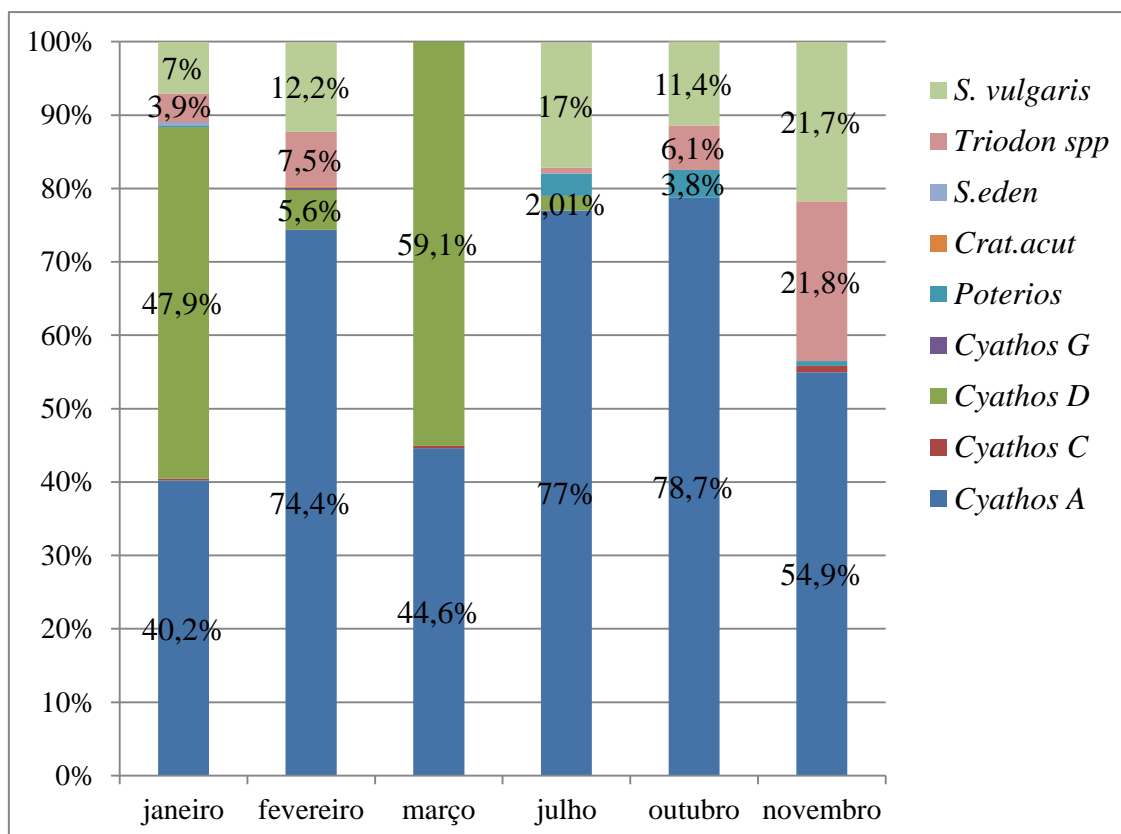
Abundância proporcional média= ((nº total de larvas de um género ou espécie/ total de larvas da amostra) x 100

De acordo com o gráfico 7, o género *Cyathostomum A* foi a mais abundante em todos os meses do estudo. Os valores mais elevados foram em outubro e em julho, com respectivamente, 78,7% e 77%. O segundo género com maior destaque em termos de abundância é o *Cyathostomum D* que atingiu valores mais pronunciados no mês de março e janeiro com 59,1% e 47,9%, respectivamente. Porém, de março para julho ocorre uma diminuição de 57,1%, deixando de ser identificado nos restantes 2 meses (outubro e novembro). Em relação aos restantes ciatostomíneos, verifica-se que a abundância proporcional média do género *Poteriostomum* foi máxima no mês de outubro com 3,8%. No mês de janeiro, fevereiro e março não foram identificadas larvas deste género.

Ao longo dos meses de estudo, as espécies pertencentes à subfamília Strongylinae foram sempre identificadas exceptuando as espécies *Strongylus edentatus* (0,4%) e da *Craterostomum acuticaudatum* (0,16%), identificadas apenas no mês de janeiro e fevereiro respectivamente. O género *Triodontophorus* foi detectado em todos os meses em estudo, com excepção do mês de março. A abundância proporcional média foi superior no mês de novembro (21,8%) e em muito menor extensão em julho (0,8%). A espécie *Strongylus vulgaris* tem um comportamento muito semelhante ao género *Triodontophorus*, uma vez que para além de não ter sido detectado em março, também

apresentou valores superiores de abundância proporcional média em novembro (21,7%).

**Gráfico 7:** Abundâncias proporcionais médias (%) dos géneros e espécies identificadas nos garranos do ISA durante os 6 meses de estudo.



*S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; *Triodon*=*Triodontophorus* spp.; *S. eden*= *Strongylus edentatus*; *Crat. acut*= *Craterostomum acuticaudatum*; *Poterios*= *Poteriostomum* spp.; *Cyathos G*= *Cyathostomum G*; *Cyathos D*= *Cyathostomum D*; *Cyathos C*= *Cyathostomum C*; *Cyathos A*= *Cyathostomum A*; abundância proporcional média((n° total de larvas de um género ou espécie/ total de larvas da amostra) x 100

Com base na tabela 9, verificamos que o género *Cyathostomum A* apresentou prevalência máxima (100%) em praticamente todos os meses, com excepção do mês de fevereiro que diminuiu para 85,7%. Portanto este é o tipo larvar mais prevalente ( $\bar{x}=97,6\%$ ;  $\sigma=5,8$ ). No caso dos restantes tipos larvares do género *Cyathostomum*, mais propriamente as larvas de *Cyathostomum D*, estas foram identificadas em todos os meses, à excepção do mês de outubro e novembro. Atingiu valores máximos de prevalência em janeiro e em março (100% em ambos). É o segundo tipo larvar mais prevalente ( $\bar{x}=52,4\%$ ;  $\sigma=16,7$ ) dos ciatostomíneos. As larvas de *Cyathostomum C* só foram identificadas em 3 meses: janeiro, março e novembro. Apresentaram uma



prevalência média de 11,9% superior à das larvas de *Cyathostomum* G ( $\bar{x}=2,4\%$ ;  $\sigma=5,8$ ) identificadas apenas em fevereiro. Em relação à subfamília Strongylinae foram identificadas larvas de *Craterostomum acuticaudatum*, *Triodontophorus* spp. e *Strongylus vulgaris*. As larvas de *Craterostomum acuticaudatum* têm uma prevalência média mais baixa (2,4%) que as restantes duas espécies desta subfamília. Além do mais só foi identificada no mês de fevereiro. De uma forma geral, a espécie *Strongylus vulgaris* (71,4%) apresenta uma prevalência média superior à de *Triodontophorus* spp. (54,8%), sendo estas, as segundas larvas mais prevalentes, no conjunto de espécies larvares de nemátodes da subfamília Strongylinae.

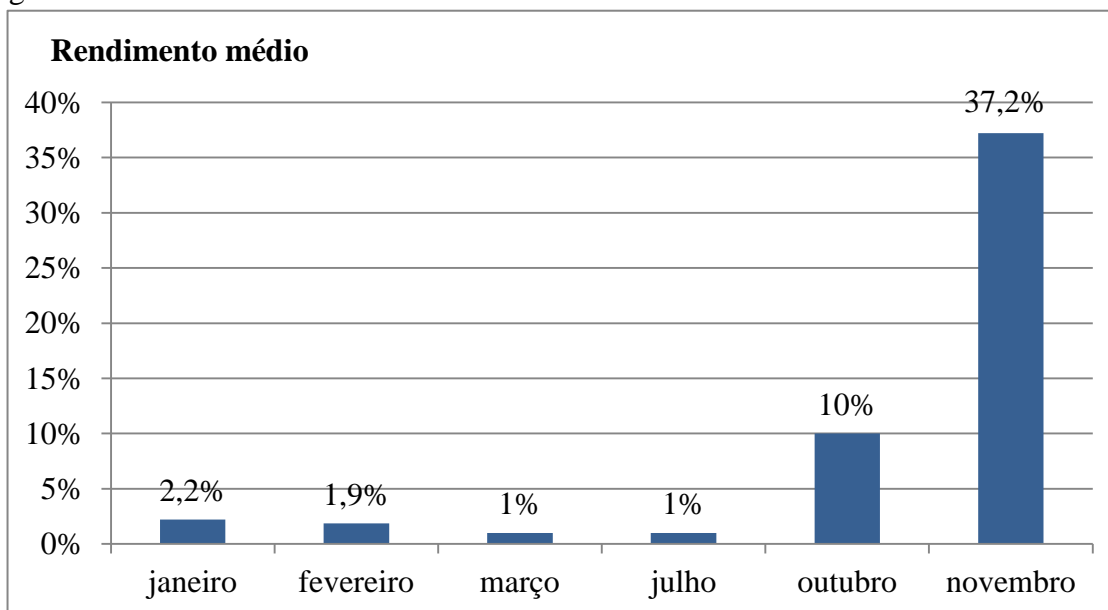
**Tabela 9:** Prevalência, em percentagem (%), dos diferentes géneros e espécies identificadas nas amostras dos garranos do ISA nos 6 meses de estudo.

2011	<i>Cyathos</i> A	<i>Cyathos</i> C	<i>Cyathos</i> D	<i>Cyathos</i> G	<i>Poterios</i>	<i>Crat.acut</i>	<i>S.eden</i>	<i>Triodon</i> spp	<i>S.</i> <i>vulgaris</i>
janeiro	100	14,3	100	0	14,3	0	28,6	71,4	100
fevereiro	85,7	0	71,4	14,3	0	14,3	0	71,4	71,4
março	100	14,3	100	0	0	0	0	0	0
julho	100	0	42,9	0	42,9	0	0	28,6	71,4
outubro	100	0	0	0	42,9	0	0	57,1	85,7
novembro	100	42,9	0	0	28,6	0	0	100	100
<b>Média aritmética</b>	97,6	11,9	52,4	2,4	21,5	2,4	4,8	54,8	71,4
<b>Máximo</b>	100	42,9	100	14,3	42,9	14,3	28,6	100	100
<b>Mínimo</b>	85,7	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Mediana</b>	100	7,15	57,2	0	21,5	0	0	64,3	78,55
<b>Desvio padrão</b>	5,8	16,7	45,8	5,8	18,0	5,837951	11,6759	35,5	37,3

*Cyathos* A= *Cyathostomum* A; *Cyathos* C= *Cyathostomum* C; *Cyathos* D= *Cyathostomum* D; *Cyathos* G= *Cyathostomum* G; *Poterios*= *Poteriostomum* spp.; *Crat. acut*= *Craterostomum acuticaudatum*; *S.eden*= *Strongylus edentatus*; *Triodon* spp.= *Triodontophorus* spp.; *S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; Prevalência= (nº de amostras positivas para um género ou espécie/total de amostras) x100

Em cada um dos tubos das coproculturas (10 ml) foram contabilizadas todas as L3 e identificadas 100 das mesmas. No entanto, nem sempre foi possível identificar as 100 larvas devido à baixa carga helmintica de algumas delas. Assim sendo, verifica-se que o rendimento médio dos 6 meses foi 8,8%, um valor baixo. Os meses que apresentaram rendimentos médios mais elevados foram novembro e outubro com respectivamente, 37,2% e 10% (Gráfico 8).

**Gráfico 8:** Rendimento (%) das coproculturas nos diferentes meses em estudo dos garranos do ISA.



$$\text{Rendimento} = (\text{L3/grama} \div \text{OPG}) \times 100$$

## 1.2 Garranos do Gerês

A média de OPG foi inferior para o mês de janeiro ( $x=742,9$ ;  $\sigma=1385,1$ ) em comparação com o mês de abril ( $x=1007,8$ ;  $\sigma=914,4$ ), isto é, compatível com o aumento do número de L3/grama de janeiro ( $x=39,3$ ;  $\sigma=25,9$ ) a abril ( $x=163$ ;  $\sigma=484,1$ ) (Gráficos 9 e 10). Relativamente à média de OPG dos 2 meses em estudo esta foi de 875 OPG.

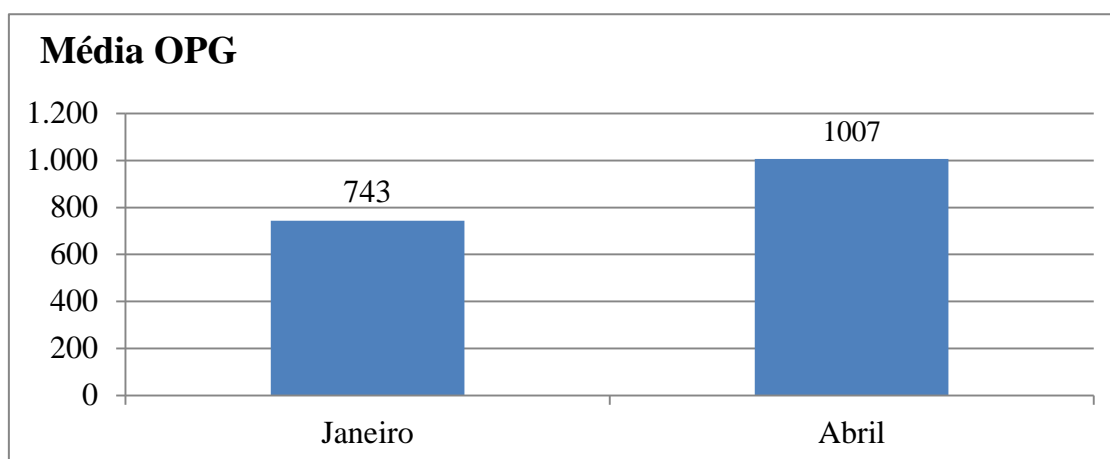
Os animais com uma infecção parasitária grave foram 41% enquanto os animais com infecção fraca foram 58,9%. Verifica-se que nenhum animal apresentou um grau de infecção média (Tabela 10).

**Tabela 10:** Frequência, em percentagem (%) e número de amostras, relativamente ao grau de infecção dos garranos do Gerês.

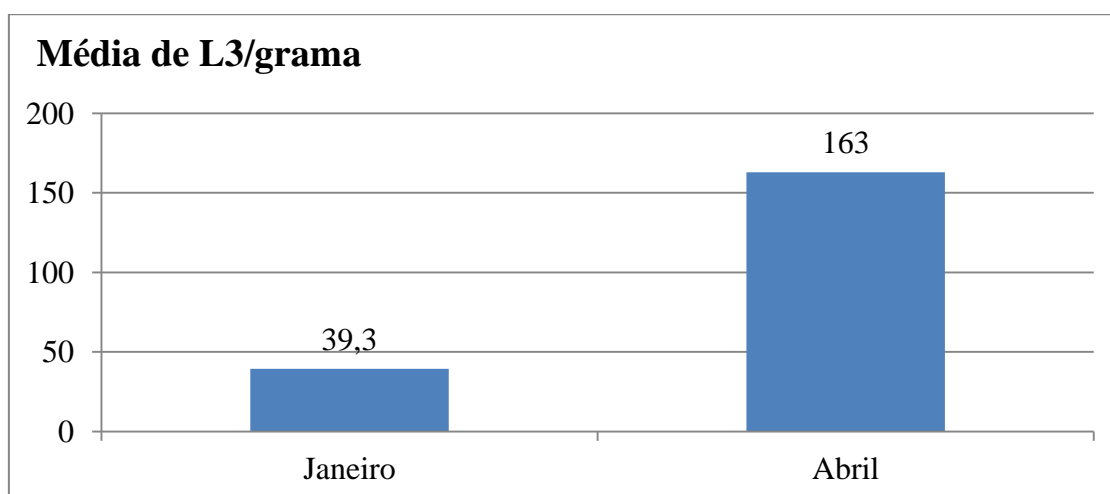
	Frequência (nº)	Frequência (%)
Infecção Fraca*	23	58,9
Infecção Média**	0	0
Infecção Elevada***	16	41

\*infecção fraca <450 OPG; 450<\*\*infecção média<1000; \*\*\*infecção elevada > 1000 OPG

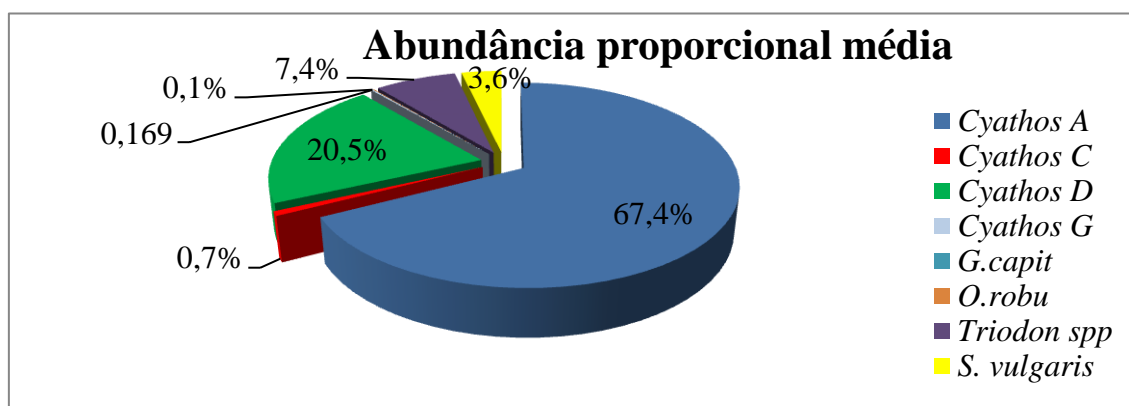
**Gráfico 9:** Média de OPG de janeiro e abril para os garranos do Gerês.



**Gráfico 10:** Média de L3/grama em janeiro e abril para os garranos do Gerês.



**Gráfico 11:** Abundância proporcional média (%) para os diferentes géneros e espécies de estrongilídeos identificadas nos garranos do Gerês.

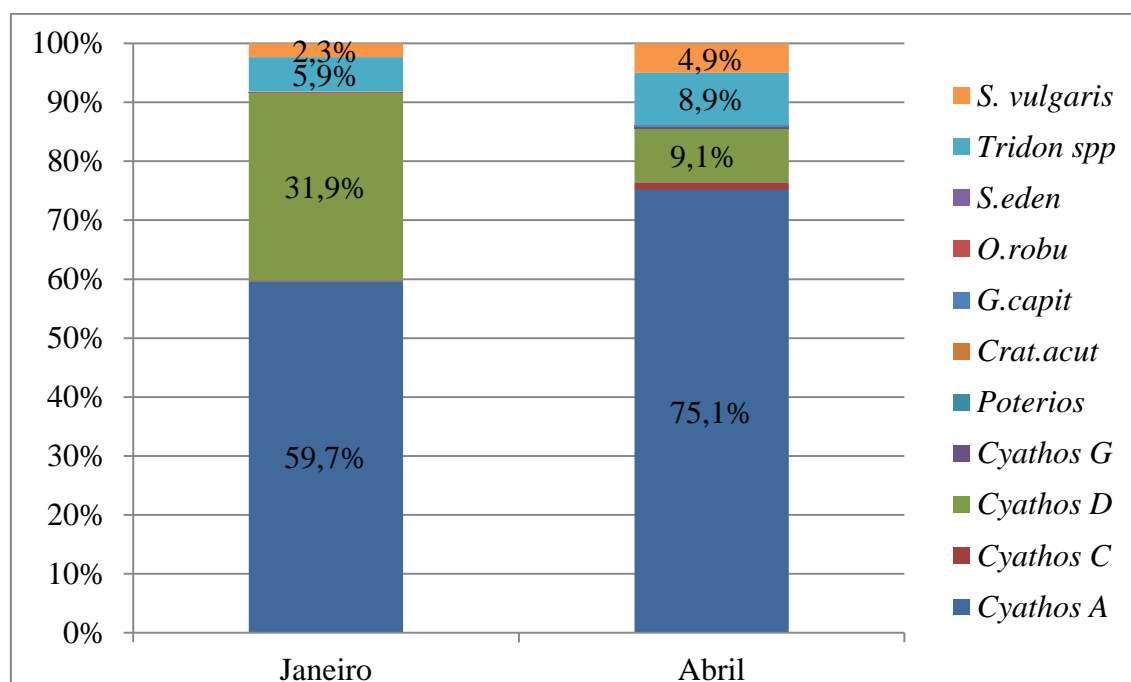


Cyathos A= *Cyathostomum A*; Cyathos C= *Cyathostomum C*; Cyathos D= *Cyathostomum D*; Cyathos G= *Cyathostomum G*;;  
*G.capitatus*= *Gyaloecephalus capitatus*; *O. robu*= *Oesophagodontus robustus*; *Triodon*= *Triodontophorus* spp.; *S. vulgaris*=  
*Strongylus vulgaris*; abundância proporcional média((nº total de larvas de um género ou espécie/ total de larvas da amostra) x 100

Através do gráfico 11, os valores mais elevados de abundância proporcional média foram atingidos para as larvas do género *Cyathostomum* A e D, com respectivamente, 67,4% e 20,5%.

Torna-se claro através da observação do gráfico 12 que em ambos os meses o tipo larvar mais abundante foi o *Cyathostomum* A. Os valores da abundância proporcional média para janeiro e abril foram respectivamente, 59,7% e 75,1%, havendo um aumento de 15,4% de janeiro para abril. O segundo tipo mais abundante foi *Cyathostomum* D e, contrariamente ao que ocorreu para o género anteriormente referido, este sofreu uma diminuição de janeiro para a abril, atingindo valores de abundância de 31,9% e 9,1%, respectivamente.

**Gráfico 12:** Abundância proporcional média (%) de estrongilídeos no mês de janeiro e abril nos garranos do Gerês.



*S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; *Tridon*=*Triodontophorus* spp.; *S. eden*= *Strongylus edentatus*; *O. robu*= *Oesophagodontus robustus*; *G. capitatus*= *Gyaloecephalus capitatus*; *Poterios*= *Poteriostomum* spp.; *Cyathos G*= *Cyathostomum G*; *Cyathos D*= *Cyathostomum D*; *Cyathos C*= *Cyathostomum C*; *Cyathos A*= *Cyathostomum A*.; abundância proporcional média((nº total de larvas de um género ou espécie/ total de larvas da amostra) x 100

As únicas espécies que apresentaram valores máximos de prevalência foram os géneros *Cyathostomum* A e D com 100% para janeiro. Além do mais esses dois géneros apresentaram prevalências médias mais elevadas com 83,4% e 76,7%, respectivamente para a *Cyathostomum* A e D (Tabela 11). A outra espécie de

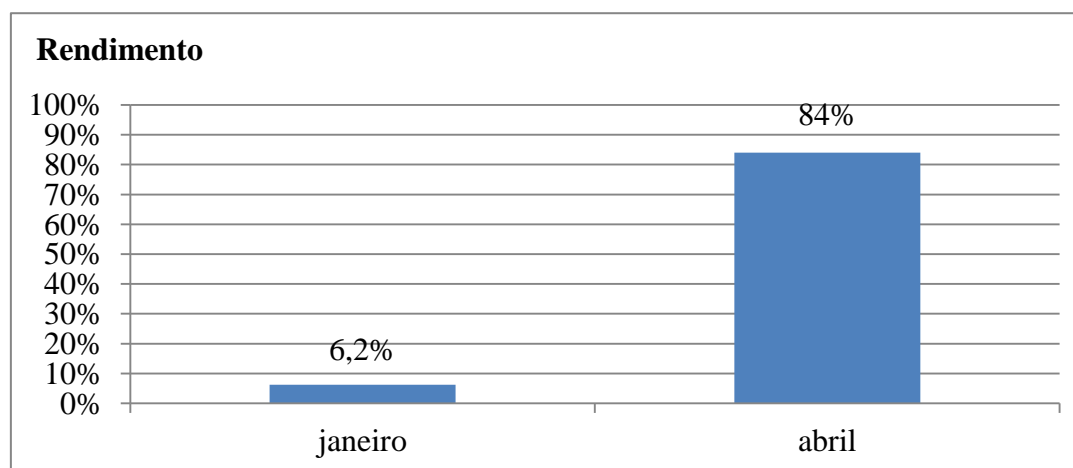
ciatostomíneos identificada foi *Gyalocephalus capitatus*, com uma prevalência média reduzida (3,4%) em comparação com as larvas de *Cyathostomum* A e D. No caso da subfamília Strongylinae as larvas de *Triodontophorus* spp. (60,7%) foram as que apresentaram uma prevalência média superior quando comparadas com as de *Oesophagodontus robustus* (7,2%) e de *Strongylus vulgaris* (50,2%) (Tabela 11).

**Tabela 11:** Prevalências (%) das diferentes espécies identificadas nos garranos do Gerês durante janeiro e abril.

2011	<i>Cyathos</i> A	<i>Cyathos</i> C	<i>Cyathos</i> D	<i>O. robu</i>	<i>G. capitatus</i>	<i>Triodon</i> spp.	<i>S. vulgaris</i>
janeiro	100	14,3	100	14,3	0	71,4	57,1
abril	66,7	20	53,3	0	6,7	50	43,3
<b>Média</b>	83,4	17,2	76,7	7,15	3,4	60,7	50,2
<b>Máximo</b>	100	20	100	14,3	6,7	71,4	57,1
<b>Mínimo</b>	66,7	14,3	53,3	0	0	50	43,3
<b>Mediana</b>	83,4	17,15	76,7	7,2	3,35	60,7	50,2
<b>Desvio padrão</b>	23,5	4,0	33,0	10,1	4,7	15,1	9,8

*Cyathos* A= *Cyathostomum* A; *Cyathos* C= *Cyathostomum* C; *Cyathos* D= *Cyathostomum* D; *O. robu*= *Oesophagodontus robustus*; *G. capitatus*= *Gyalocephalus capitatus*; *Triodon* spp.= *Triodontophorus* spp.; *S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; Prevalência= nº de amostras positivas para um género ou espécie/total de amostras) x100

**Gráfico 13:** Rendimento (%) das coproculturas dos garranos do Gerês em janeiro e abril.



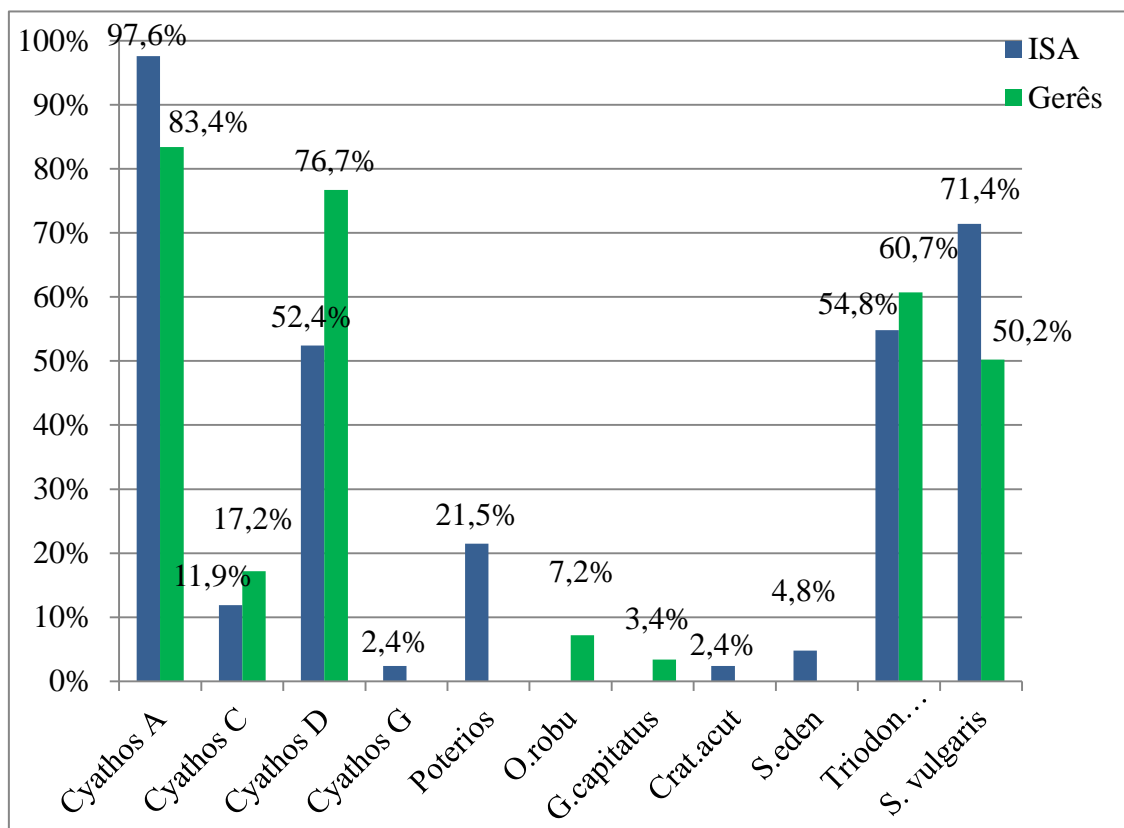
Rendimento= (L3/grama÷OPG) x100

Pela observação do gráfico 13 verifica-se uma grande disparidade no rendimento médio dos 2 meses em estudo. O mês de janeiro apresentou um rendimento muito mais baixo que o de abril, sendo estes respectivamente de 6,5% e 84%.

### **1.3 Comparação entre os garranos do Gerês e do ISA**

Em relação às espécies parasitárias dos 2 grupos de garranos, registaram-se os seguintes resultados: as larvas *Cyathostomum* A foram as que apresentaram prevalências superiores em comparação com as restantes espécies, atingindo valores máximos para os garranos do ISA (97,6%); o 2º tipo larvar que se são as larvas do género *Cyathostomum* D, com prevalência média superior nos garranos do Gerês (76,7%); a 3ª espécie com maior prevalência média é a espécie *Strongylus vulgaris* com valores semelhantes em ambos os grupos (Gerês=50,2%; ISA=71,4%) Gerês; as larvas de *Triodontophorus* spp. revelaram valores de 60,7% e 54,8%, respectivamente, para os do Gerês e do ISA. Todavia, existem larvas que apenas foram identificadas num dos grupos, como é o caso das *Cyathostomum* G (52,4%), *Poteriostomum* spp. (21,5%), *Craterostomum acuticaudatum* (2,4%), e *Strongylus edentatus* (4,8%) identificados apenas nos garranos do ISA (Gráfico 14).

**Gráfico 14:** Comparação das prevalências médias (%) dos gêneros e espécies de estrongilídeos identificadas nas amostras dos garranos do ISA e do Gerês.



*Cyathos A*= *Cyathostomum A*; *Cyathos C*= *Cyathostomum C*; *Cyathos D*= *Cyathostomum D*; *Cyathos G*= *Cyathostomum G*; *Poterios*= *Poteriostomum* spp.; *O. robu*= *Oesophagodontus robustus*; *G. capitatus*= *Gyalocephalus capitatus*; *Crat. acut*= *Craterostomum acuticaudatum*; *S. eden*= *Strongylus edentatus*; *Triodon*= *Triodontophorus* spp.; *S. vulgaris*= *Strongylus vulgaris*; Prevalência= (nº de amostras positivas para um gênero ou espécie/total de amostras) x100

As únicas larvas para qual se obteve uma diferença estatisticamente significativa entre as prevalências dos 2 grupos de garranos, foram as da espécie *Cyathostomum C* ( $p\text{-value}= 1,45 \times 10^{-5}$ ). Em relação às espécies identificadas apenas nos garranos do Gerês, estas foram: *Oesophagodontus robustus* (7,2%) e *Gyalocephalus capitatus* (3,4%). A diferença das prevalências de ambas as espécies, nos dois grupos de garranos, não é considerada estatisticamente significativa, visto que para a espécie *Oesophagodontus robustus* e *Gyalocephalus capitatus* o valor de  $p$  é 0,0781 para ambos.

A partir do gráfico 14 torna-se evidente que os garranos do ISA apresentaram uma maior diversidade de espécies. Por sua vez, os do Gerês apresentam valores superiores de prevalência para os seguintes gêneros e espécies: *Cyathostomum D* e *Triodontophorus* spp.

Através dos dados obtidos na tabela 12, verifica-se que o género *Cyathostomum* A apresenta uma prevalência média (97,6%) e um mínimo (85,7%) superiores para os garranos do ISA. O tipo larvar *Cyathostomum* C, apesar de ter tido uma prevalência média superior para os garranos do Gerês (17,2%), atingiu o valor máximo de prevalência nos garranos do ISA (42,9%). Por sua vez o género *Cyathostomum* D teve valores mínimos nulos nos garranos do Gerês, sendo este encontrado nos garranos do ISA com um valor mínimo de prevalência de 57,2%. Relativamente ao género *Triodontophorus* e à espécie *Strongylus vulgaris* atingiram máximos de 100% nos garranos do ISA.

**Tabela 12:** Comparação das prevalências médias, em percentagem (%), dos máximos, dos mínimos e medianas das espécies comuns em ambos os grupos de garranos.

	Parâmetros	ISA	Gerês
<i>Cyathostomum</i> A	*P.M	97,6	83,4
	**Máx	100	100
	***Min	85,7	66,7
<i>Cyathostomum</i> C	*P.M	11,9	17,2
	**Máx	42,9	20
	***Min	0	14,3
<i>Cyathostomum</i> D	*P.M	52,4	76,7
	**Máx	100	100
	***Min	57,2	0
<i>Triodontophorus</i> spp.	*P.M	54,8	60,7
	**Máx	100	71,4
	***Min	0	50
<i>Strongylus vulgaris</i>	*P.M	71,4	50,2
	**Máx	100	57,1
	***Min	0	43,3

\*P.M: Prevalência média; \*\*Máxima: Prevalência Máxima; \*\*\*Mínimo: Prevalência Mínima; Prevalência= n° de amostras positivas para um género ou espécie/total de amostras) x100

## 2. Alergias e grupos controlos

### 2.1. Biópsia e exame histopatológico

Através da realização da biópsia obtemos material para efectuar um exame histopatológico de modo a verificarmos se se tratava de uma situação de dermatite atópica. O resultado histopatológico foi compatível com dermatite atópica, dado que obteve-se confirmação da existência de linfócitos, histócitos e eosinófilos, compatível com uma hipersensibilidade cutânea.



## 2.2. Pesquisa de larvas pulmonares no Aparelho de Baerman

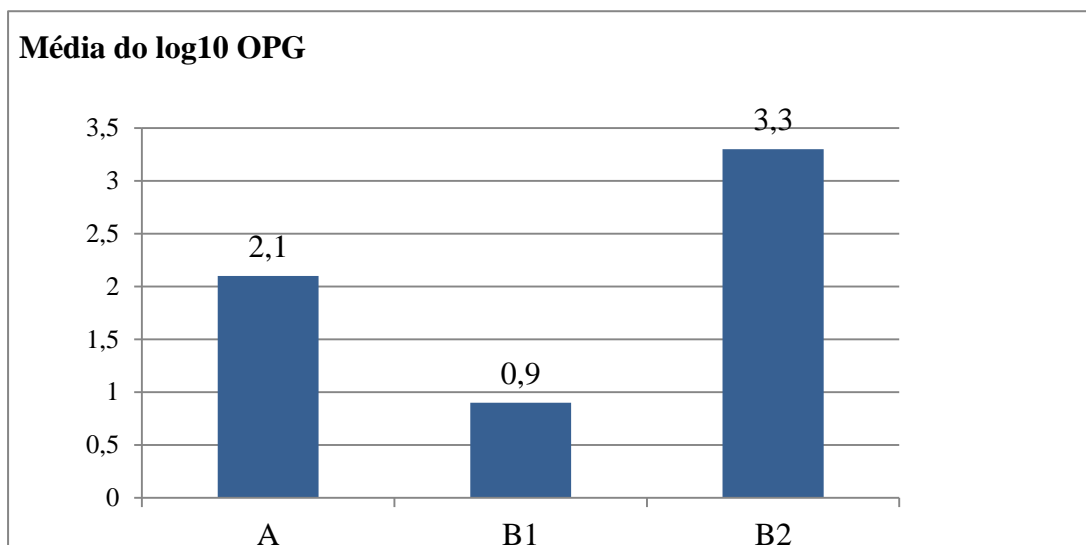
A partir da observação da solução obtida pelo Métodos de concentração das larvas de nemátodes através do Aparelho de Baermann, não foi observada nenhuma das larvas L1, mais propriamente as larvas *Dictyocaulus* spp.

Ao compararmos a média do logaritmo de OPG nos três grupos em estudo verificou-se que o grupo B1, equídeos com ORVA e Dermatite atópica ( $x=0,9$ ;  $\sigma=1,4$ ) apresenta uma média inferior tanto ao grupo B2, equídeos com Hipersensibilidade à picada de insectos ( $x=3,3$ ;  $\sigma=0,8$ ) como ao grupo A, equídeos do grupo controlo ( $x=2,1$ ;  $\sigma=1,1$ ) (Gráfico 15).

Através dos testes efectuados verifica-se que a diferença entre a média do logaritmo de OPG é considerada estatisticamente significativa para a os três grupos, uma que o valor de  $p$  é inferior a 0,05. Assim sendo os valores obtidos foram os seguintes:

- B1 - A  $p$  value =0,0146; B2 – A  $p$  value =0,0309; B2 - B1  $p$  value <0,001

**Gráfico 15:** Média do logaritmo de base 10 de OPG do grupo A, B1 e B2.



Os valores da média do logaritmo de L3/grama (Tabela 13) nos grupos em estudo vão ao encontro da média do logaritmo de OPG supracitado. Para a média do logaritmo de L3/grama também o grupo B1 é o que possui um valor inferior ( $x=0,4$ ;  $\sigma=0,6$ ) em relação ao grupo B2 ( $x=2,2$ ;  $\sigma=0,6$ ) e ao grupo A ( $x=1,4$ ;  $\sigma=0,9$ ) (Tabela 13).

Mais uma vez verifica-se que a diferença entre a média dos três grupos é estatisticamente significativa, visto que o valor de  $p$  é inferior a 0,05.

**Tabela 13:** Logaritmo da Médias e desvios padrão do número de L3 /g nos grupos A, B1 e B2.

- B1 – A  $p$  value= 0,00112 ; B2 – A  $p$  value=0,04624 ; B2 - B1  $p$  value=< 0,001

Grupos	N	X +/- $\sigma$
A	19	1,4 +/- 0,9
B1	14	0,4 +/- 0,6
B2	10	2,2 +/- 0,6

A= equídeos com ausência de hipersensibilidade; B1=equídeos com ORVA e Dermatite atópica (hipersensibilidade do tipo I); B2= equídeos com hipersensibilidade à picada de insectos (hipersensibilidade do tipo IV); X= média; S= desvio padrão.

Verifica-se através dos dados obtidos que a prevalência é superior para os parasitas da subfamília Cyathostominae em comparação com a subfamília Strongylinae, sendo o valor de  $p$ , para esta última, considerado não estatisticamente significativo.

Todavia há que destacar os dois géneros da subfamília Cyathostominae com maior prevalência, sendo estes os *Cyathostomum* A e *Cyathostomum* D. Relativamente ao primeiro género, este apresentou uma prevalência, estatisticamente significativa ( $p=0,006379$ ), de 28,6%, 68,4% e 90%, respectivamente para o grupo B1, A e B2. O outro género é o *Cyathostomum* D, cuja prevalência é menor do que o *Cyathostomum* A e não é considerada estatisticamente significativa ( $p=0,05967$ ). Contudo, apresentam valores de prevalência de 7,1%, 26,3% e 50,0% respectivamente para o grupo B1, A e B2 (Tabela 14).

**Tabela 14:** Prevalência média (%) das espécies dos estrongilídeos nos grupos A, B1, B2.

2011	Grupos			p-value
Estrongilídeos	A (n= 19)	B1 (n=14)	B2 (n=10)	
<i>Cyathostomum A</i>	68,4	28,6	90,0	<b>0,006379</b>
<i>Cyathostomum C</i>	0	0	20	<b>0,0314</b>
<i>Cyathostomum D</i>	26,3	7,1	50,0	0,05967
<i>Cyathostomum G</i>	0	0	10	0,1847
<i>Oesop. robustus</i>	5,3	0	0	0,5238
<i>Strongylus vulgaris</i>	10,5	0	0	0,2659
<i>Triodontophorus</i> spp.	10,5	0	0	0,2659

**Tabela 15:** Percentagem (%) do grau de infecção de cada um dos grupos A, B1 e B2.

Grupos	nº	OPG = 0	0<OPG<100	OPG >100
A	19	25	44,4	54,5
B1	14	75	33,3	9,1
B2	10	0	22,2	36,4

Os dados obtidos demonstram que o grupo B1 possui uma maior percentagem de equídeos com OPG=0 (75%) comparativamente com os restantes dois. Além disso, este é o que possui uma menor percentagem de equídeos que eliminam mais de 100 OPG (9,1%) em comparação com o grupo A e B2, que possuem respectivamente, 54,5% e 36,4 % do total deste nível de eliminação de ovos (Tabela 15).

## Capítulo IV

### 1. Discussão de resultados:

Através do estudo das amostras dos garranos do ISA ( $n=42$ ), do Gerês ( $n=39$ ) e das amostras dos equídeos dos grupos A ( $n=19$ ), B1 ( $n=14$ ) e B2 ( $n=10$ ), ficou patente que as infecções parasitárias neles existentes foram maioritariamente causadas por parasitas da família Strongylidae, sendo o mesmo constatado por outros autores (Upjohn, Shipton, Lerotholi, Attwood & Verheyen, 2010). Relativamente às duas subfamílias que a constituem verifica-se que as larvas da subfamília Cyathostominae foram as que apresentaram maior abundância (ISA=80%; Gerês=88,8%) e maior prevalência média, verificando-se o mesmo em estudos como o Tolliver, Lyons & Drudge (1987), Gawor, (1995), Rodrigues, Anjos, Souto-Maior, Castro, Oliveira & Luque, (2000), Madeira de Carvalho (2001) e Morariu, Darabus, Oprescu, Mederle, Ilie, Stepanescu & Mihailovici (2008). Todavia o oposto também pode ocorrer. Como é o caso do estudo de 50 equídeos no qual os parasitas da subfamília Strongylinae (34%) foram os mais prevalentes comparativamente aos da subfamília Cyathostominae (28%). As possíveis justificações foram o precário manejo higienossanitário e na escolha dos desparasitantes (Stancampiano, Mughini & Poglayen, 2010). No nosso estudo as larvas do género *Cyathostomum* A apresentaram valores de prevalência de 97,6%, 83,4%, 68,4%, 28,6% e 90% respectivamente para os garranos do ISA, do Gerês, grupo A, B1 e B2. As do género *Cyathostomum* D apresentam 52,4%, 76,7%, 26,3%, 7,1% e 50,0% de prevalência respectivamente para os garranos do ISA, Gerês, grupo A, B1 e B2. Ao compararmos ambos os grupos de garranos, verifica-se que o género *Cyathostomum* A apresentou valores superiores para os garranos do ISA (97,6%) em comparação com os do Gerês (83,4%). Contudo, no caso do género *Cyathostomum* D ocorreu exactamente o contrário: os garranos do Gerês (76,7%) apresentaram prevalências médias mais elevadas do que os do ISA (52,4%). Além disso, as larvas do género *Cyathostomum* A e *Cyathostomum* D foram as que apresentaram maior abundância média, tanto nos garranos do ISA como nos do Gerês. Nos do ISA as larvas de *Cyathostomum* A e D tiveram uma abundância média de respectivamente 61,4% e 18,4%, enquanto nos do Gerês as larvas de *Cyathostomum* A e D apresentaram respectivamente, 67,4% e 20,5%. Portanto, tanto em equídeos desparasitados, como foi o caso de alguns dos animais dos grupos A, B1 e B2, como não desparasitados (garranos do ISA e Gerês), as larvas mais prevalentes e abundantes em coprocultura são as do género *Cyathostomum* A e *Cyathostomum* D. Isto vai de

encontro ao crescente predomínio das larvas de ciatostomienos nos equídeos (Madeira de Carvalho, 2006; Nielsen & Kaplan, 2008).

As espécies *Oesophagodontus robustus* e *Gyalococephalus capitatus*, pertencentes à subfamília Strongylinae e subfamília Cyathostominae, respectivamente, foram apenas detectadas nos garranos do Gerês e apresentaram prevalências médias de 7,2% e 3,4% respectivamente. De acordo com Hoglund *et al.* (1997), os valores atingidos para estas espécies no estudo de 461 equídeos foram inferiores a 0,5%. Todavia existem estudos que constatarem elevadas prevalências médias para a espécie *Gyalococephalus capitatus*. É o caso dos estudos realizados por Gawor (1995) e Collobert-Laugier, Hoste, Sevin & Dorcines (2002) que constataram que a prevalência média da referida espécie era 28% e 19% respectivamente.

As larvas pertencentes à subfamília Strongylinae com maior prevalência média foram as de *Strongylus vulgaris* (ISA=71,3%; Gerês=50,2%) seguidas das de *Triodontophorus* spp. (ISA=54,8%; Gerês=60,7%). Porém a diferença entre as prevalências médias de *Strongylus vulgaris* dos 2 grupos de garranos não é considerada estatisticamente significativa ( $p$ -value= 0,604). Os elevados valores de prevalências médias de *Strongylus vulgaris* acarretam graves riscos para a saúde dos equídeos. Destacam-se alterações gastrointestinais (colites, diarreia) e cólicas tromboembólicas, como principais quadros clínicos (Duncan & Pirie, 1975; Kassai, 1999; Madeira de Carvalho, 2007). Ao compararmos os nossos dados referentes aos garranos do Gerês com os obtidos por Madeira de Carvalho (1994), (1995) e (1996/97) com valores de prevalência de respectivamente de 25%, 45% e 100%, verificámos que ocorreu novamente uma diminuição da prevalência. Todavia, existem outros trabalhos que apontam para prevalências semelhantes às obtidas para os garranos do Gerês, como o Martins, Correia, Souza, Fernandes, Sant'anna & Scott (2001) com prevalência de 56,7%. Outros trabalhos verificaram prevalências médias diferentes das mencionadas. É o caso dos trabalhos realizados por Gawor (1995), English (1979), Tolliver *et al.* (1987) e Matthee, Krecek, & Milne (2000), que constataram prevalências médias de 74%, 88%, 84% e 100%, respectivamente. Estes valores foram semelhantes às prevalências médias de *Strongylus vulgaris* nos garranos do ISA. Na verdade, sempre que os equídeos não sejam desparasitados regularmente ou que a sua desparasitação não inclua Avermectinas/Milbemicinas (AM), os níveis de prevalência de *S. vulgaris* serão sempre mais elevados (Madeira de Carvalho, 2001). No entanto existem outros estudos, cujos valores de prevalências médias são inferiores a todos os

mencionados. Temos o exemplo dos estudos de Bucknell, Gasser, & Beveridge (1995), Reinemeyer, Smith, Gabel & Herd (1984) e de Mtifilodze & Hutichinson (1990) que obtiveram valores de respectivamente 23%, 27% e 28%, mas todos foram efectuados na Austrália e EUA, países onde a frequência de desparasitação e a utilização de AM são frequentes. Pode-se então considerar que as prevalências médias de *Strongylus vulgaris* de ambos os grupos de garranos foram relativamente elevadas, facto que é explicado pela ausência de tratamento anti-helmíntico. Se compararmos a sua prevalência com as dos equídeos desparasitados, chegamos efectivamente a esta conclusão (Lyons, Tolliver, Drudge & Swerczek 1988; Hoglund, Ljungstrom, Nilsson, Lundquist, Osterman & Uggla, 1997; Duncan & Love, 1990; Frouco, 2011). O quadro clínico provocado pelas larvas de *Strongylus vulgaris* pode ser exacerbado pela existência de larvas de *Strongylus edentatus*, cujos trajectos migratórios tortuosos no parênquima hepático e a formação de granulomas eosinofílicos no cego e cólon ventral direito tendem a causar quadros clínicos graves (McCraw & Slocombe, 1974). A prevalência média dessas larvas foi de 4,8% nos garranos do ISA e, constituem uma das principais preocupações nos equídeos bravios. As larvas de *Craterostomum acuticaudatum* obtiveram uma prevalência média de 2,4%. Ainda assim os valores obtidos para estas larvas foram inferiores aos determinados por Bucknell, Gasser & Beveridge (1994). Os referidos autores obtiveram prevalências médias de 23% para as larvas de *Strongylus edentatus* e 7% para as de *Craterostomum acuticaudatum*. Constataram, ainda, que as prevalências das referidas larvas eram superiores em animais em condições de higiene precárias em comparação com animais com boas condições de higiene. Esta poderá ser uma razão válida para a existência destas larvas apenas nos garranos do ISA comparativamente aos do Gerês. O facto dos equídeos do ISA estarem confinados a um espaço de 1 hectare comparativamente aos do Gerês que detêm uma vasta área de 69592 hectares, promove um aumento do encabeçamento e consequentemente aumenta o grau de contaminação da área onde se encontram. Assim sendo, o confinamento dos animais e consequentemente o aumento do contacto entre eles pode ser a causa pela qual as prevalências parasitárias da maioria dos géneros larvares são superiores nos garranos do ISA, comparativamente às do Gerês (Morand & Poulin, 1998). Esta também pode ser a razão da diferença de OPG entre os 2 grupos de garranos, visto que quando mais reduzidas forem as dimensões da área de pastoreio maior será a probabilidade de re-infecção (Madeira de Carvalho, 2001; Acevedo, Vicente, Alzaga, & Gortazar, 2005). Assim, verifica-se que os garranos do ISA têm

uma média de 1 334,3 OPG e os do Gerês 875 OPG. Se comparamos o único mês que lhes é comum (janeiro), chegámos à mesma conclusão (ISA=1 216,2 OPG; Gerês= 763 OPG): os garranos do ISA apresentavam valores superiores de OPG. Madeira de Carvalho (2001) obteve valores semelhantes no núcleo dos garranos do PNPG. Neste estudo, o referido autor verificou que em 1994, 1995 e 1996/97 as médias de OPG eram respectivamente 1058, 2911 e 1625 OPG de *estrongilídeos*. Para além da clara evidência do espaço, também pode-se atribuir a diferença de OPG dos 2 grupos de garranos do nosso estudo à temperatura. No referido mês as temperaturas em Lisboa (janeiro=17 °C) foram ligeiramente superiores comparativamente às registadas no PNPG (janeiro= 16 °C) (Weatherunderground, 2011). Isto favoreceu o desenvolvimento larvar na região de Lisboa. Todavia a diferença dos valores de temperatura nas duas regiões em estudo não é muito significativa. Logo há que ter em conta outros factores responsáveis por esta diferença.

Em adição aos valores de OPG, também verificou-se que os garranos do ISA obtiveram 45,2% das amostras com valores superiores a 1000 OPG (infecção elevada) valor superior aos do Gerês (41%). Por sua vez, os garranos do Gerês, possuem 58,9% de amostras com valores inferiores a 450 OPG em comparação com os do ISA, que apresentaram 47,6% das amostras para este limite. Para além da clara responsabilidade da temperatura e do espaço relativamente a esta discrepância, também não podemos colocar de parte as características inerentes aos animais. De acordo com Reinemeyer (1992), Love & Duncan (1992), Klei & Chapman (1999) e Chapman, French & Klei (2009), a resistência individual de cada animal aos *estrongilídeos* é adquirida com a idade. Isto implica que haja uma maior eliminação de ovos em animais mais jovens (Osterman Lind, Höglund, Ljungström, Nilsson & Uggla, 1999; Döpfer, Kerssens, Meijer, Boersema & Eysker, 2004; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009; Becher, Mahling, Nielsen & Pfister, 2010). Os autores admitem que até aos 4 a 5 anos de idade os equídeos têm pouca resistência aos *estrongilídeos*, o que culmina em quadros clínicos mais exuberantes comparativamente com os animais mais velhos. Assim sendo, como há 4 animais jovens no ISA com idades inferiores a 4 anos, este facto pode ter contribuído para um aumento da eliminação de ovos destes parasitas. Como será abordado mais adiante, em situações de infecções crónicas dá-se uma adaptação entre o hospedeiro e o parasita, isto é, ocorre uma modelação do sistema imunitário. Através da diminuição da sintomatologia associada à infecção parasitária, os parasitas tornam-se adaptados ao seu hospedeiro (May, 1983).



No decorrer dos 6 meses de estudo dos equídeos do ISA, os picos de OPG coincidiram com o mês de março ( $\bar{x}=2\,692,9$ ;  $\sigma=1\,781,7$ ) e o mês de julho ( $\bar{x}=1\,825$ ;  $\sigma=2\,224,8$ ), compatível com o final do Inverno-Primavera e com Verão, respectivamente. O pico de OPG que ocorreu no mês de março deveu-se à existência de larvas de ciatostomíneos que se mantiveram no organismo dos equídeos durante o Inverno. A sobrevivência a temperaturas baixas está associada ao mecanismo de hipobiose. A chegada da Primavera e consequentemente o aumento da temperatura permite que as larvas retomem o seu metabolismo normal. Como consequência reproduzem-se e dão origem ao pico anteriormente mencionado (Herd *et al.*, 1985 citado por Madeira de Carvalho, 2001). O outro pico de OPG ocorreu em julho. Este está associado a duas situações diferentes: à existência de larvas de ciatostomíneos grávidas que persistiram desde a Primavera até julho e da re-infecção por novas larvas durante este período de tempo (Ougbourne, 1975). Ambos os picos coincidem com dois dos obtidos no trabalho de Madeira de Carvalho (2001) em garranos do PNPG, sendo os outros picos em maio e outubro. Todavia, existem outros estudos que apesar de comprovarem a existência de dois picos, verificaram que estes surgiam em épocas diferentes das anteriormente registadas. Trabalhos realizados por Craig, Bowen & Ludwig (1983) e por Herd, Willardson & Gabel (1985) determinaram a existência de dois picos de eliminação de OPG: no Verão e no Outono. No entanto, Martin (1992) através de um estudo realizado em equídeos em regime extensivo e sem qualquer tipo de desparasitação, constatou a existência de três picos de eliminação de ovos. Coincidiram com fevereiro-abril, junho e novembro-dezembro, diferente de todos os anteriormente mencionados. Madeira de Carvalho (2001) verificou igualmente a existência de três picos de eliminação de ovos num estudo efectuada em equídeos do Ribatejo. Os picos deste trabalho ocorreram em fevereiro (Inverno), maio (Primavera) e novembro (Outono). Os meses com menor média de OPG correspondem aos meses de outubro e novembro, dado nesta altura, as larvas entrarem em hipobiose e portanto diminui a eliminação de ovos. A discrepância entre os 2 meses do estudo dos garranos do Gerês (janeiro e abril) poderá indicar a possibilidade de um pico de eliminação de OPG em abril, compatível com os dados obtidos por Madeira de Carvalho (2001) no ano de 1995 para os garranos do PNPG. Relativamente às L3/grama estas atingiram valores superiores no mês de abril (163 L3/grama) em comparação com o mês de janeiro (39,3 L3/grama). Mais uma vez, este facto vai ao encontro do que ocorreu no estudo de Madeira de Carvalho (2001) no ano 1996/97, visto que após o pico de

eliminação de OPG no mês de março segue-se a formação de L3 e consequentemente um pico no mês de abril.

Como já foi aludido, o rendimento consiste em determinar a percentagem de ovos que atingiu o estado de L3. Os meses correspondentes ao Inverno (janeiro, fevereiro e março) obtiveram valores baixos de rendimento nos dois grupos de garranos. Uma das possíveis explicações é que nos meses de Inverno ocorre uma diminuição do metabolismo das L3, ocorre a hipobiose e como a população é maioritariamente larvar, consequentemente haverá uma diminuição da eliminação de ovos. Portanto esta pode ser uma possível explicação para a diminuição do rendimento nos meses de Inverno. Porém não se pode colocar de parte outras hipóteses que possam justificar a existência de rendimentos baixos, tais como, ovos inviáveis e a resistência individual de cada indivíduo aos helmintos

Todavia, algo curioso é o facto do rendimento larvar dos garranos do ISA no mês de julho (Verão) ser baixo (1%). De acordo com um estudo efectuado por Gronvold, Nansena, Henriksena, Larsena, Wolstrupa, Bresciana, Rawata & Fribera (1996) os fungos nematófagos têm uma elevada acção predadora das formas exógenas de desenvolvimento dos strongilídeos na pastagem, com um desenvolvimento máximo aos 30°C, aumentando assim a sua capacidade de aprisionamento dos nemátodes. Como estes fungos podem ocorrer naturalmente em solos ricos em matéria orgânica, com elevado grau de humidade (como pode ocorrer no ISA devido à sua textura fina) e desenvolvem a sua acção com temperaturas elevadas (o mês de julho em Lisboa atingiu temperaturas médias máximas de 26°C) (Weatherunderground, 2011), pode-se inferir que os fungos poderão ter exercido uma acção predadora sobre as formas larvares L1, L2 e L3 destes nemátodes, impedindo-os de se dispersarem pela pastagem e consequentemente de re-infectarem os equídeos, para além da própria dessecação da pastagem promovida pelas temperaturas elevadas.

Como foi constatado através do nosso estudo e do de Madeira de Carvalho (2001), ocorre um pico de OPG no mês de março e consequentemente um pico de L3/grama no mês de abril. Portanto uma das possíveis explicações para os 80% de rendimento em abril nos garranos do Gerês poderá ser exactamente esta.

Os dados obtidos para o rendimento do mês de outubro (10%) e de novembro (37,2%) evidencia um claro aumento em comparação com os restantes meses do estudo dos garranos do ISA. Porém de acordo com Dimander, Hoglund & Waller (2003a) nos meses de outubro/novembro há uma diminuição da eliminação de ovos e

consequentemente L3/grama. Logo deveriam ter sido obtidos valores menores de rendimento. No entanto, como ficou patente através do nosso estudo ocorreu o contrário. Uma das possíveis explicações, é a separação física entre os esporos fúngicos e os estádios pré-larvares através da acção da chuva. Logo irá ocorrer uma diminuição da eficácia do fungo e consequentemente o aumento da detecção de L3 na pastagem e nas culturas fecais. Este aumento é seguido do aumento da re-infecção pelos garranos. Como a pluviosidade no mês de novembro (107,1 mm) e outubro (79,8 mm) (IM, 2011) foi superior à dos restantes meses esta pode ser uma possível explicação (Dimander *et al.* 2003a).

Provavelmente, estas questões da maior ou menor percentagem de larvas desenvolvidas a partir dos ovos, também poderão depender do hospedeiro, pois há sempre animais mais eliminadores de ovos que outros. Ou então poderá estar dependente da própria concorrência entre formas larvares para o mesmo alimento na cultura fecal, o que poderá acarretar menor desenvolvimento das mesmas (Madeira de Carvalho, comunicação pessoal).

Em sùmula, os garranos de ambas as localizações mostraram que o seu parasitismo gastrointestinal é dominado principalmente pelos *estrongilídeos*, em particular os *ciatostomíneos*, ainda que não tivéssemos encontrado animais com alterações clínicas induzidas por estes. Na verdade, o facto de haver um equilíbrio entre o número de animais com níveis de infecção baixa e elevada, poderá significar que esse equilíbrio poderá ser extensível à sua condição clínica, não manifestando uma *estrongilidose* clínica apesar do seu parasitismo ser por vezes bastante expressivo a nível analítico, quer nos OPG, quer na sua composição em géneros e espécies nas coproculturas.

O estudo e agrupamento dos equídeos que constituem os grupos A, B1 e B2 tiveram como objectivo, determinar se a existência de doença alérgica está ou não inversamente relacionada com a infecção parasitária.

O presente trabalho incluiu 43 equídeos, os quais foram distribuídos por três grupos, de acordo com dois parâmetros: presença ou ausência de reacção alérgica e o tipo de hipersensibilidade. Assim sendo, o grupo A ( $n=19$ ) era constituído por equídeos sem reacção alérgica, o grupo B1 ( $n=14$ ) por equídeos diagnosticados com ORVA e Dermatite atópica, ambas classificadas como hipersensibilidade do tipo I e, finalmente o grupo B2 ( $n=10$ ) por equídeos que manifestam Hipersensibilidade à picada de insectos considerada, neste caso, uma hipersensibilidade do tipo IV.

O grupo B1, constituído por equídeos com ORVA e Dermatite atópica apresentou valores inferiores aos restantes dois grupos tanto para a média do logaritmo de OPG como para a média do logaritmo de L3/grama. Este grupo destacou-se ainda por apresentar uma grande percentagem de animais com valores inferiores a 100 OPG, ou seja, com um índice parasitário inferior aos outros dois grupos.

A progressiva industrialização dos países e consequente aumento do uso de anti-helmínticos promoveu a diminuição da carga helmíntica dos indivíduos e, culminou no aumento da prevalência alérgica (Lynch *et al.*, 1999; van den Biggelaar *et al.*, 2000; Tilley, 2010). Lynch *et al.* (1997) verificaram através do estudo de um grupo de crianças da ilha de Coche (Venezuela), que o número de episódios asmáticos aumentava após a administração de anti-helmínticos. No âmbito das dermatites alérgicas, um estudo efectuado por Endara *et al.* (2010), permitiu comprovar o aumento da sua prevalência em crianças submetidas a tratamento anti-helmíntico relativamente às que não receberam este tratamento. Lynch *et al.* (1993) efectuaram um estudo similar, no qual o grupo escolhido foi um conjunto de crianças da região de Caracas na Venezuela. Verificaram que após o tratamento anti-helmíntico houve um aumento da concentração de IgE e de IL-4 e consequentemente aumento de reacções alérgicas cutâneas. Bründler *et al.* (2010), averiguaram que equídeos com sintomatologia compatível com ORVA apresentavam 2,5 vezes menor probabilidade de eliminar ovos de *strongilídeos* em comparação com animais sem patologia alérgica nas mesmas condições de pastoreio. No nosso estudo, 75% dos animais B1 excretaram 0 OPG em relação ao total deste limite de eliminação de ovos, 33,3% de B1 em relação ao total do intervalo 0-100 OPG e apenas 9,1% de B1 no total de cavalos com eliminação de ovos > 100 OPG, indo ao encontro dos resultados obtidos por Neuhans *et al.* (2010). Estes autores comparam o grau de excreção de ovos de *strongilídeos* em equídeos que apresentavam ORVA, sendo descendentes de progenitores também com ORVA, e em equídeos sem qualquer tipo de sintomatologia respiratória. Os dados que obtiveram demonstraram (Tabela 16) que animais com ORVA e seus descendentes eliminavam menor número de ovos de *strongilídeos* em comparação com os sem sintomatologia respiratória/doença alérgica.

**Tabela 16:** Comparação do grau de eliminação de ovos de estrongilídeos, em percentagem (%), de equídeos com ORVA, de descendentes de equídeos com ORVA e de equídeos sem sintomatologia alérgica.

Níveis de OPG de ovos de estrongilídeos			
Equídeos	0 OPG	0-100 OPG	>100 OPG
O	94	4	2
DO	73	19	8
S	63	15	22

O= equídeos com sintomatologia de ORVA; DO= descendentes de equídeos com sintomatologia de ORVA; S= equídeos sem sintomatologia e nas mesmas condições de pastoreio.

Todos os estudos anteriormente mencionados, à semelhança do nosso, apontam para o facto de que a patologia alérgica tendencialmente promove uma diminuição da carga helmíntica. Contudo, como será mencionado mais adiante esta afirmação não é verdadeira para todos os tipos de hipersensibilidade apenas para os mediados por IgE, ou seja, hipersensibilidade do tipo I. Quando há uma predisposição alérgica (hipersensibilidade tipo I), o organismo ao contactar com alérgenos produz IgEs específicas, o que o torna menos adequado como hospedeiro, dificultando a sobrevivência de helmintes no seu seio (Neuhans *et al.*, 2010; Brundler *et al.*, 2011).

A situação inversa também é verdadeira, isto é, animais/pessoas parasitadas de forma crónica apresentam menor prevalência de doenças alérgicas (Cookson & Moffatt, 1997; Lynch *et al.*, 1999; Araújo, Lopes, Medeiros, Cruz, Sousa-Atta, Solé & Carvalho, 2000). Os helmintes que encontram-se no seio do hospedeiro, promovem a estimulação de uma resposta Th2/ interleucina-4 que por sua vez estimula a síntese de IgEs policlonais. Estas imunoglobulinas (IgEs) ligam-se aos mastócitos e aos basófilos impedindo a produção de IgEs específicas pelo hospedeiro (Lynch *et al.*, 1993; Lynch *et al.*, 1998). Portanto a existência de helmintes e estimulação da produção de IgEs policlonais, impede a reacção de hipersensibilidade alérgica. Esta situação foi comprovada em humanos por vários autores, nomeadamente, van den Biggelaar e seus colaboradores (2000) que verificaram uma redução de 68% de reacções alérgicas cutâneas em crianças infectadas cronicamente com *S. haematobium* em comparação com crianças não infectadas. Destaca-se outro estudo realizado por Cooper, Chico, Bland, Griffin & Nutman (2009) em crianças ( $n=4\ 433$ ) infectadas cronicamente com

*Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* em que a prevalência de dermatites alérgicas era menor em comparação com crianças não infectadas por estes parasitas.

No presente estudo verificou-se no entanto que nem todos os tipos de hipersensibilidade apresentam uma relação inversa com o índice parasitário. Isto ficou patente nos valores obtidos nos equídeos do grupo B2 para a média do logaritmo de OPG, de L3/grama e para a prevalência parasitária que foram superiores neste. Como já foi mencionado, os equídeos do grupo B2 foram diagnosticados com Hipersensibilidade à picada de insectos e para além de apresentarem valores superiores para os parâmetros acima referidos. Foram também os que apresentaram uma maior percentagem de animais com valores de OPG superiores a 100. De facto, existe algum desacordo relativamente ao tipo de hipersensibilidade em que se deve enquadrar a hipersensibilidade à picada dos insectos contudo, estudos mais recentes inferem que poderá ser tanto uma reacção de hipersensibilidade do tipo I (Wagner *et al.*, 2009) como do tipo IV, dependendo de se tratar de uma situação aguda ou crónica (van der Hagen, Griot-Wenk, Welle, Busato, von Tschärner, Zurbriggen & Marti, 2001; Wagner, Miller, Morgan, Hillegas, Erb, Leibold & Antczak, 2006a; Cunningham & Dunkel, 2008). Nos casos por nós estudados, como o parasitismo gastrointestinal é potencialmente uma situação crónica, corresponderá a uma hipersensibilidade do tipo IV, a qual como já foi anteriormente referido não é mediada por IgEs.

## **2.Limitações do estudo**

Há que destacar algumas das limitações com que nos deparamos ao longo do nosso estudo.

No estudo da epidemiologia da estrongilidose dos garranos houve a impossibilidade de obtermos amostras referentes aos mesmos meses em ambos os núcleos.

No caso dos equídeos com hipersensibilidades alérgicas seria interessante tornar os grupos o mais homogéneos possíveis, isto é, equídeos com a mesma raça e idade, de modo a verificarmos se a existência de hipersensibilidade alérgica do tipo I é a única causa de diminuição da carga helmíntica.

Relativamente ao método de McMaster, o número de ovos contabilizados poderá não ser representativo do grau de infecção do equídeo, uma vez que este varia de acordo com a estação do ano e a própria imunidade do animal. Contudo, o facto de não haver evidências parasitárias não coloca de parte a existência de infecção parasitária. Mais uma vez há outros factores que influenciam a sua detecção, tais como, existência de

apenas parasitas machos, períodos de hipobiose (típicos dos ciatostomíneos) e fases de desenvolvimento pré-patente (Bowman, 2003; Zajac & Conboy, 2006; Nielsen, Baptiste, Tolliver, Collins & Lyons, 2010).

## Capítulo V

### 1. Conclusão

A dissertação teve dois objectivos: determinar a epidemiologia de estrongilidose equina em garranos do ISA e do Gerês, dando ênfase à possibilidade de resistências e, verificar se existe uma relação inversa entre equídeos com doença alérgica/sem doença alérgica e a sua carga helmintica.

Para os garranos do ISA e do Gerês foram colhidas e examinadas 42 e 39 amostras fecais, respectivamente. Enquanto para os equídeos com doenças alérgicas/sem doença alérgica foram colhidas 43 amostras. A divisão destes últimos animais foi realizada tendo em conta o tipo de hipersensibilidade e a existência ou não de doença alérgica, sendo a constituição a seguinte: grupo A, equídeos sem sinais clínicos alérgicos, grupo B1 com hipersensibilidade do tipo I (ORVA, Dermatite atópica) e grupo B2 com hipersensibilidade do tipo IV (Hipersensibilidade à picada de insectos).

Ao compararmos os dois grupos de garranos e os equídeos com doença alérgica, conclui-se que os parasitas mais prevalentes pertencem à família Strongylidae. Relativamente aos garranos, como foi mencionado os parasitas mais prevalentes e abundantes foram os pertencentes à subfamília Cyathostominae, destacando-se as larvas do género *Cyathostomum* A e D. Os garranos do ISA apresentaram valores mais elevados de prevalência média para as larvas do género *Cyathostomum* A (ISA=97,6%; Gerês=83,4%), enquanto as larvas do género *Cyathostomum* D foram mais prevalentes nos do Gerês (76,7%) comparativamente aos do ISA (52,4%). Constatámos o mesmo cenário relativamente aos grupos com com doença alérgica, em que a prevalência das larvas do género do *Cyathostomum* A foi de 68,4%, 28,6% e 90% respectivamente para o grupo A, B1 e B2. As larvas do género *Cyathostomum* D apresentaram prevalências médias de 26,3%, 7,1% e 50,0% respectivamente para o grupo A, B1 e B2.

Em relação às larvas com maiores valores de prevalência média, pertencentes à subfamília Strongylinae, destacam-se as de *Strongylus vulgaris* (ISA=71,4%; Gerês=50,2%) e *Triodontophorus* spp. (ISA=54,8%; Gerês=60,7%). As larvas das espécies *Strongylus edentatus* e *Craterostomum acuticaudatum* foram encontradas

apenas nos garranos do ISA com valores, respectivamente, de, 4,8% e 2,4%. Os garranos do ISA apresentaram 45,2% das amostras com valores superiores a 1000 OPG. Os elevados valores de amostras com mais de 1000 OPG (45,2%) e os elevados valores de prevalência média nos garranos do ISA relativamente aos do Gerês, poderão estar associados a factores inerentes aos próprios garranos ou ao espaço e ao clima. Os factores associados aos garranos incluem a idade da primoinfecção. No primeiro caso, de acordo com certos autores, a resistência parasitária é adquirida à medida que o animal cresce, sendo atingida na sua plenitude aos 4 a 5 anos de idade. Como os garranos do ISA têm 4 animais com menos de 4 anos, é normal que eliminem maior quantidade de ovos de *strongilídeos*, razão pela qual apresentam maiores valores de prevalência média e maior número de amostras com valores superiores a 1000 OPG (45,2%) comparativamente aos do Gerês. Analogamente ao último factor destaca-se a temperatura e o reduzido espaço. No período de tempo no qual o estudo foi efectuado, os valores de temperatura foram mais elevados em Lisboa o que contribui para um desenvolvimento larvar superior nessa região comparativamente ao do Gerês. No que diz respeito ao espaço, como os garranos do ISA se encontram num espaço de apenas 1 hectare faz com que o encabeçamento seja superior em comparação com os do Gerês. Que promove o aumento do contacto entre os animais e as formas infectantes e portanto a probabilidade de re-infecção é superior. Assim, as reduzidas dimensões do espaço são a justificação pela qual os animais do ISA possuem uma média de OPG (1 334,4) superior em relação à dos garranos do Gerês (875 OPG). Se compararmos o mês que lhes é comum (janeiro) a conclusão é a mesma: os garranos do ISA (1 216,2 OPG) possuem valor de OPG superior que os do Gerês (763 OPG). Os picos de eliminação de OPG dos garranos do ISA coincidiram com mês de março ( $\bar{x}=2\,692,9$ ;  $\sigma=1\,781,7$ ) e Julho ( $\bar{x}=1\,825$ ;  $\sigma=2\,224,8$ ), compatível com o final do Inverno-Primavera e com Verão, respectivamente. Os resultados foram coincidentes com os resultados obtidos em outros trabalhos. O pico de OPG que ocorreu no mês de março deveu-se à existência de larvas de *ciatostomíneos* cuja sobrevivência depende do mecanismo de hipobiose que ocorre durante o Inverno. O pico de julho surge pela re-infecção por novas larvas e pela persistência larvas de *ciatostomíneos* grávidas.

As diferenças a nível do rendimento larvar poderão estar associadas a factores ambientais, individuais ou mesmo de competição larvar. No primeiro caso destacam-se a presença de esporos fúngicos na pastagem cuja acção depende da temperatura e da



precipitação. O valor de rendimento em julho (1%) nos garranos do ISA pode ser justificado pela temperatura atingida neste mês (26°C) ser semelhante à temperatura de actividade máxima de acção dos fungos da pastagem sobre os helmintes. O aumento do rendimento em novembro é justificado pela precipitação (107,1 mm) ser superior aos restantes meses em estudo. A acção da chuva promove a separação dos esporos fúngicos. O processo de aprisionamento dos helmintes diminui e consequentemente aumenta a probabilidade de re-infecção dos equídeos. Não se pode colocar de parte, as características individuais de cada equídeo na questão de eliminação larvar. Como foi mencionado anteriormente, a idade é um factor determinante, em que os mais jovens (idades inferiores a 4 anos) são mais suscetíveis aos helmintes e eliminam uma maior quantidade de ovos. Todavia a própria competição das larvas por alimento também é um factor a ter em conta.

Através do estudo das amostras dos três grupos de equídeos com doença alérgica/sem doença alérgica, constatou-se que o logaritmo da média de OPG (0,9) e de L3/grama (0,4) foi inferior para o grupo B1, ou seja, foi inferior para os equídeos com hipersensibilidade do tipo I. Além do mais, este grupo foi o que apresentou uma maior percentagem de amostras com 0 OPG (75%) e uma menor percentagem de amostras com mais de 100 OPG (9,1%). Através destes dados podemos inferir a existência de uma associação inversa entre doenças alérgicas promovidas por hipersensibilidade do tipo I e a carga helmíntica. A produção de IgEs específicos pelo organismo aquando de uma doença alérgica por hipersensibilidade do tipo I torna o organismo hostil à sobrevivência helmíntica. Uma das conclusões indirectas desde estudo, é que animais com doenças do foro alérgico (hipersensibilidade do tipo I), parecem não necessitar de tratamentos antiparasitários, embora esta situação careça de estudos mais apurados. No entanto, no caso do grupo B2 verificou-se o contrário, isto é, estes animais apresentaram um valor superior do logaritmo da média de OPG (3,3) e de L3/grama (2,2) comparativamente ao grupo A e B1. A explicação advém do tipo de hipersensibilidade em causa: hipersensibilidade do tipo IV. Todavia, esta temática ainda está em estudo.

Uma das particularidades dos dois temas abordados nessa dissertação é chegarmos à conclusão indirecta de que os helmintes têm a capacidade de modelar as respostas do sistema imunitário do seu hospedeiro de modo a sobreviver, tornando assim a acção do Homem apenas relevante em casos extremos.

## Bibliografia:

Acevedo, P., Vicente, J., Alzaga, V. & Gortazar, C. (2005). Relationship between bronchopulmonary nematode larvae and relative abundances of Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispânica*) from Castilla-La Mancha, Spain. *Journal of Helminthology*, 79, 113-118.

Ainswortha, D. M., Grünigb, G., Matychaka, M. B., Younga, J., Wagnerc, B., Erbd, H. N. & Antczak, D. F. (2003). Recurrent airway obstruction (RAO) in horses is characterized by IFN- $\gamma$  and IL-8 production in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96. (1-2), 83–91.

Andersson, L.S., Swinbune, J. E., Meadows, J. R. S., Broström, H., Eriksson, S., Fikse, W. F., Frey, R., Sundquist, M., Tseng, C.T., Mikko, S. & Lindgren, G. (2012). The same ELA class II risk factors confer equine insect bite hypersensitivity in two distinct populations. *Immunogenetics*, 64. (3), 201–208. Acedido a 6 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3276761/>

Araújo, M. I., Lopes, A. A., Medeiros, M., Cruz, A. A., Sousa-Atta, L. Solé, D. & Carvalho, E. M. (2000). Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *International archives of allergy and immunoogyl*, 123. (2), 145–148.

Arundel, J.H. (1989). *Parasitic diseases of the horses*. Department of Veterinary Paraclinical Sciences. University of Melbourne, 150pp.

Bailey, S.R. & Elliott, J. (2007). The corticosteroid laminitis story: 2. Science of if, when and how. *Equine Veterinary Journal*, 39. (1), 7–11.

Barbet, J.L., Bevier, D. & Greiner, E.C. (1990). Specific immunotherapy in the treatment of Culicoides hypersensitive horses: A double-blind study. *Equine Veterinary Journal*, 22. (4), 232-235.

Baudena, M.A. (2003). *Equine Immunity to cyathostome infections*. Dissertation Graduate Faculty of Veterinary Medicine of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, 134pp.

Bauer, C., Merkt, J.C., Janke-Grimm, G. & Burger, H.J. (1986). Prevalence and control of benzimidazole-resistance small strongyles on german thoroughbred studs. *Veterinary Parasitology*, 21. (3), 189-203.

Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G., Boersema, J.H. & Eysker, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in Dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology*, 124 (3-4), 249-58.

Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K. & Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): na investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, 171.(1-2), 116-122.

Belmonte, C., Fernandes, F., Gaspar, J., Gama, J., Dotto, F., Gallio, M., Otto, M. A. & Monteiro, S. G. (2009). Antiparasitic compounds in the control of helminths from equines kept in native pasture in the central region of Rio Grande do Sul state, Brazil. *Veterinária em Foco*, 7. (1), 47-51.

Benavides, M.V. (2008). Prós e contra da resistência genética dos ovinos aos helmintos gastrointestinais. *Documentos* 79. (1982-5390), 32pp. Embrapa Pecuária Sul. Acedido a 7 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/894642/1/CPPSULDoc79.pdf>

Bezerra, S. Q., Machado do Couto, M.C., Moura de Souza, T., Bevilacqua, C. M. L., Anjos, D.H.S. & Sampaio, I. B. M. (2007). Ciatostomíneos (*Strongylidae-Cyathostominae*) parasitas de cavalos: Ecologia experimental dos estágios préparasítico sem graminha tifton 85 (*Cynodon spp.* cv. Tifton 85) na baixada Fluminense, RJ, Brasil. *Parasitologia Latinoamericana*, 62. (1-2), 27 – 34.

Blanek, M., Brady, H. A., Nichols, W. T., Hutcheson, D. P., Jackson, S. P., Pond, K. R. & Wilson, K. R. (2006). Investigation of anthelmintic resistance and deworming regimens in horses. *The Professional Animal Scientist*, 22. (4), 346–352.

Bonesi, G. L. (2007). “Lesões hepáticas provocadas por larvas de helmintos em equídeos (*Equus spp*) abatidos em matadouro-frigorífico e suas implicações em carcaças”. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica. Universidade Estadual Paulista “Júlio de mesquita Filho”, 157 pp. Disponível em: [http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2007/bonesi\\_gl\\_dr\\_botfmvz.pdf](http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2007/bonesi_gl_dr_botfmvz.pdf)

Bongianni, M. (1995). *Guia das Raças de Cavalos*. Poneis (p.155). Lisboa: Editorial presença, 259 pp.

Boersema, J.H., Eysker, M. & van der Aar, W.M. (1998). The reappearance of strongyle eggs in the faeces of horses after treatment with moxidectin. *The Veterinary quarterly*, 20. (1), 15-7.

Borgsteed, F.H.M., Dvojnos, G.M. & Kharchenko, V.A. (1997). Benzimidazole resistance in cyathostomes in horses in the Ukraine. *Veterinary Parasitology*, 68. (1-2), 113-117.

Borkow, G., Leng, Q., Weisman, Z., Stein, M., Galai, N., Kalinkovich, A. & Bentwich, Z. (2000). Chronic immune activation associated with intestinal helminth infections results in impaired signal transduction and anergy. *Journal Clinical. Investigation*, 106. (8), 1053–1060.

Bowman, D.D. (2003). Helminths. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. (8ª edição), (pp. 174- 181). USA, Missouri: Saunders-Elsevier, 422 pp.

- Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Silva, A.R., Araújo, J.M., Carvalho, R.O., Tavela, A.O., Campos, A.K. & Carvalho, G.R. (2009). Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 163. (4), 335-340.
- Brundler, P., Frey, C.F., Gottstein, B., Nussbaumer, P., Neuhaus, S. & Gerber, V. (2011). Lower shedding of strongylid eggs by Warmblood horses with recurrent airway obstruction compared to unrelated healthy horses. *The Veterinary Journal*, 190. (2), 12-5.
- Bucknell, D.G., Gasser, R.B. & Beveridge, I. (1995). The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *International Journal of Parasitology*, 25. (6), 711-724.
- Capron, A., Dessaint, J.P., Capron, M. & Bazin, H. (1975). Specific IgE antibodies in immune adherence of normal macrophages to *Schistosoma mansoni* schistosomules. *Nature*, 253, 474-475.
- Cepeda, R. M. S. (2010). *Avaliação de eficácia de produtos biocidas no processo de autorização para comercialização e, sua aplicação no controlo de Culicídeos em surtos de Língua Azul*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa, 49 pp.
- Chapman, M. R., French, D.D. & Klei, T.R. (2009). Prevalence of strongyle nemátodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. *The Journal of Parasitology*, 89. (2), 309-314.
- Cipriano, F.G.F. (2007). *Diversidade genética da raça garrana baseada em MTDNA, microssatélites e dados genealógicos*. Dissertação de Mestrado em Biologia da Conservação. Lisboa: Faculdade de Ciências. Departamento de Biologia Animal. Universidade de Lisboa, 128 pp.
- Coles, G. (2003). Strategies to minimize anthelmintic resistance in large animal practice. *In Practice*, 25. (9), 494-499.
- Collobert, C., Bernard, N., Clément, F., Hubert, J., Kerboeuf, D., Flochlay, A. & Blond-Riou, F. (1998). Efficacy of oral moxidectin gel against benzimidazole-resistant cyathostomes in horses both naturally and artificially infected with a field population. *Journal of Equine Veterinary Science*, 18. (9), 588-590.
- Collobert-Laugier, C., Hoste, H., Sevin, C. & Dorchies, P. (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyle in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, 110. (1-2), 77-83.
- Conder, G. A. & Campbell, W. C. (1995). Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance with special reference to drug resistance. *Advances in Parasitology*, 35, 1-84.

Cooper, P. J., Chico, M. E., Bland, M., Griffin, G. E. & Nutman, T. B. (2003a). Allergic Symptoms, Atopy, and Geohelminth Infections in a Rural Area of Ecuador. *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine* 168, 313–317.

Cooper, P. J., Chico, M. E., Rodrigues L. C., Ordonez, M., Strachan, D., Griffin, G. E. & Nutman, T.B. (2003b). Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 111. (5), 995-1000.

Cooper, P.J. (2009). Interactions between helminth parasites and allergy. *Current Opinion Allergy Clinical Immunology*, 9. (1), 29-37.

Cookson, W.O. & Moffatt, M.F. (1997). Asthma: an epidemic in the absence of infection? *Science*, 275. (5296), 41–42.

Cordero del Campillo, M. (1999). Importancia económica y sanitaria de las parasitosis. In: Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A., Martínez Fernández, A.R., Sánchez Acedo, M.C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. & Carvalho Varela, M. *Parasitología Veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U., 1000 pp.

Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*, 2. (2), 1-6.

Couëtil, L. L., Hoffman, A. M., Hodgson, J., Buechner-Maxwell, V., Viel, L., Wood, J. L.N., Lavoie, J.P. (2007). Inflammatory Airway Disease of Horses. *Journal. Veterinary Internal Medicine*, 21. (2), 356–361.

Craig, T.M., Bowen, J.M. & Ludwing, K.G. (1983). Transmission of equine cyathostomes (Strongylidae) in central Texas. *American Journal Veterinary Research*, 44. (10), 1867-1869.

Craig, T.M. (1999). Considerations for the control of equine cyathostomes in arid areas. *Veterinary Parasitology*, 85. (2-3), 181-188

Craven, J., Bjorn, H., Henriksen, S.A, Nansen, P., Larsen, M. & Lendal, S. (1998). Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms, using five different methods of calculating faecal egg count reduction. *Equine Veterinary Journal*. 30. (4), 289-293.

Cunha, N.S. & Magalhães, M.R. (2002). *Tapada da Ajuda- vegetação da tapada da ajuda*. Acedido a 30 de Outubro de 2011. Disponível em: [http://www.isa.utl.pt/tapada/2\\_vegetacao.htm](http://www.isa.utl.pt/tapada/2_vegetacao.htm)

Cunningham, F. M. & Dunkel, B. (2008). Equine recurrent airway obstruction and insect bite hypersensitivity: Understanding the diseases and uncovering possible new therapeutic approaches. *The Veterinary Journal*, 177, 334–344.

da Silva, E.R., de Pereira, M.U., Pinto, L.A., Jones, M.H., Pitrez, P.M. & Stein, R.T. (2008). Intestinal helminth infestation is associated with increased bronchial responsiveness in children. *Pediatric Pulmonology*, 43. (7), 662-665.

Davis, E. & Rush, B.R. (2002). Equine recurrent airway obstruction: pathogenesis, diagnosis, and patient management. *The Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, 18. (3), 453-467.

Darwin, C. (1920). *Origem das espécies*. Ediouro Publicações S.A. Acedido a 27 de Outubro. Disponível em [http://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=WYOwnMq3x9MC&oi=fnd&pg=PA9&dq=darwin+e+a+sele%C3%A7%C3%A3o+natural&ots=CQ9psGiO\\_r&sig=jG\\_OAJgKIMxzQXZi25SOUtBy-eI#v=onepage&q=darwin%20e%20a%20sele%C3%A7%C3%A3o%20natural&f=false](http://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=WYOwnMq3x9MC&oi=fnd&pg=PA9&dq=darwin+e+a+sele%C3%A7%C3%A3o+natural&ots=CQ9psGiO_r&sig=jG_OAJgKIMxzQXZi25SOUtBy-eI#v=onepage&q=darwin%20e%20a%20sele%C3%A7%C3%A3o%20natural&f=false)

Demeulenaere, D., Vercruysse, J., Dorny, P. & Claerebout, E. (1997). Comparative studies of ivermectin and moxidectin in the control of naturally acquired cyathostome infections in horses. *Veterinary Record*, 141. (15), 383-386.

Deprez, P. & Vercruysse, J. (2003). Treatment and follow-up of clinical cyathostomiasis in horses. *Journal of Veterinary Medicine*, 50. (10), 527-529.

Devenney, I. & Fälth-Magnusson, K. (2000). Skin prick tests may give generalized allergic reactions in infants. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 85. (6), 457-460.

Dimander, S.O., Hoglund, J. & Waller, P.J. (2003a). Disintegration of Dung Pats from Cattle Treated with the Ivermectin Anthelmintic Bolus, or the Biocontrol Agent *Duddingtonia flagrans*. *Acta vet. scand.*, 44. (3-4), 171-180.

Dimander, S.O., Hoglund, J. & Waller, P.J. (2003b). Seasonal translation of infective larvae of gastrointestinal nematodes of cattle and the effect of *Duddingtonia flagrans*: a 3-year plot study. *Veterinary Parasitology*, 117, 99-116,

Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G.M., Boersema, J.H. & Esyker, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in Dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology*, 124, 249-258.

Duncan, J.L. & Pirie, H.M. (1975). The pathogenesis of single experimental infections with *Strongylus vulgaris* in foals. *Research in Veterinary Science.*, 18. (1), 82-93.

Duncan, J. (1982). Internal parasites of horses: Treatment and control. *Equine Clinic*, 4. (6), 183-188.

Duncan, J. & Love, S. (1990). Strongylose équine à *S. vulgaris*. *Le point Vétérinaire*, 21. (126), 17-25.

Endara, P., Vaca, M., Chico, M. E., Erazo, S., Oviedo, G., Quinzo, I., Rodriguez, A., Lovato, R., Moncayo, A.L., Barreto, M. L., Rodrigues, L. C. & Cooper, P.J. (2010). Long-term periodic anthelmintic treatments are associated with increased allergen skin reactivity. *Clinical & Experimental Allergy*, 40, 1669–1677.

Else, K.J. (2005). Have gastrointestinal nemátodes outwitted the immune system?. *Parasite Immunology*, 27. (10-11), 407–415.

Elsener, J. & Villeneuve, A. (2009). Comparative long-term efficacy of ivermectin and moxidectin over winter in Canadian horses treated at removal from pastures for winter housing. *Canadian Veterinary Journal*, 50. (5), 346-490.

English, A.W. (1979). The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland. 3. Seasonal variation in arterial populations of *Strongylus vulgaris*, and the prevalence of some helminthes. *Australian Veterinary Journal*, 55. (7). 310-314.

Estêvão, C. M.S. V. (2010). *O património geológico em áreas protegidas no Maciço Ibérico: inventariação de geossítios baseada em pesquisa bibliográfica*. Dissertação de Mestrado em Património Geológico e Geoconservação. Minho: Universidade do Minho. Escola de Ciências.

Fonseca, A.H. & Pereira, M.J.S (2002). Classificação de nemátodes em Medicina Veterinária. *Colecção parasitológica Veterinária*, pp.22-26. Disponível em: <http://fonseca.vet.br/parasitologia/nema/nematoda.pdf>

Foreyt, W.J. (2001). Parasitas of Horses *Veterinary Parasitology-Reference Manual*. (15° edition), (pp.121-126). Iowa: Blackwell Publishing.

Francisco, I., Arias, M., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Dacal, V., Suárez, J.L., Uriarte, J., Morondo, P., Sánchez-Andrade, R., Díez-Baños, P. & Paz-Silva, A. (2009). Intrinsic factors influencing the infection by helminth parasites in horses under oceanic climate área (NW Spain). *Journal of Parasitology Research*, Article ID 616173, pp. 1-5

Frouco, G.D.S. (2011). *Estrongilidose em explorações equinas com vocação tauromáquica*. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa- Universidade Técnica de Lisboa, 79 pp.

Gawor, J.J. (1995). The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Veterinary Parasitology*, 58. (1-2), 99-108.

Gerber, V., Swinburne, J.E., Blott, S.C., Nussbaumer, P., Ramseyer, A., Klukowska-Rötzler, J., Dolf, G., Marti, E., Burger, D. & Leeb, T. (2008). Genetics of recurrent airway obstruction (RAO). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 115. (7), 271-275.

Gras, L.M., Usai, F. & Stancampiano, L. (2011). Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: Epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite self-regulation. *Veterinary Parasitology*, 179. (1-3), 167-174.

Gronvold, J., Nansena, P., Henriksena, S.A., Larsena, M., Wolstrupa, J., Bresciania, J., Rawata, H. & Friberta, L. (1996). Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *Journal of Helminthology*, 70. (4), 291-297.

Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J. & Affolter, V. K. (2005). Perivascular diseases of the dermis. In *Skin diseases of the dog and cat: Clinical and histopathologic diagnosis*, (2nd ed). (pp. 200-206). Oxford: Blackwell Science.

Gruber, A. *Introdução ao estudo de nemátodes*. Instituto Superior de ciências biomédicas da Universidade de São Paulo. Acedido em 3 de Julho. Disponível em

[http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Introducao\\_nematoides.pdf](http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Introducao_nematoides.pdf) Hagel I., Lynch, N.R., DiPrisco, M.C., Lopez, R.I., Garcia, N.M. (1993). Allergic reactivity of children of different socioeconomic levels in tropical populations. *Int Arch Allergy Immunol*, 101.(2).209-14.

Hagel, I., Cabrera, M., Hurtado, M.A., Sanchez, P., Puccio, F., Di Prisco, M.C. & Palenque, M.(2007). Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial hyper reactivity: An outstanding association in Venezuelan school children from endemic areas. *Acta Trópica*, 103.(3).231-241

Gunn, A. & Irvive, R.J. (2003). Subclinical and ruminant foraging strategies- a review. *Wildlife Society Bulletin*, 31. (1), 117-126.

Hagel I., Lynch, N.R., DiPrisco, M.C., Lopez, R.I., Garcia, N.M. (1993). Allergic reactivity of children of different socioeconomic levels in tropical populations. *International Archives Allergy Immunology*, 101. (2), 209-14.

Hagel, I., Cabrera, M., Hurtado, M.A., Sanchez, P., Puccio, F., Di Prisco, M.C. & Palenque, M. (2007). Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial hyper reactivity: An outstanding association in Venezuelan school children from endemic areas. *Acta Trópica*, 103. (3), 231-241.

Hellberg, W., Wilson, A.D., Mellor, P., Doherr, M.G., Torsteinsdottir, S., Zurbriggen, A., Jungi, T. & Marti, E. (2006). Equine insect bite hypersensitivity: Immunoblot analysis of IgE and IgG subclass responses to *Culicoides nubeculosus* salivary gland extract. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113. (1-2), 99-112.



Herd, R.P., Willardson, K.L. & Gabel, A.A. (1985). Epidemiological approach to the control of horse strongyles. *Equine Veterinary Journal*, 17. (3), 202-207.

Herd, R.P. & Coles, G.C. (1995). Slowing the spread of anthelmintic resistant nemátodes of horses in the United Kingdom. *Veterinary Record*, 136, 481-485.

Hodgkinson, J.E, Freeman, K.L., Lichtenfels, J.R., Palfreman, S., Love, S. & Matthews, J.B. (2005). Identification of strongyle eggs from anthelmintic-treated horses using a PCR-ELISA based on intergenic DNA sequences. *Parasitology Research*, 95. (4), 287-292.

Hoglund, J., Ljungstrom, B.L., Nilsson, O., Lundquist, H., Osterman, E. & Ugglå, A. (1997). Ocorrence of *Gasterophilus intestinalis* and some parasitic nemátodes of horses in Sweden . *Acta Vet. Scand.*, 38. (2), 157-166.

House, A. (2010). Recurrent Airway Obstruction (RAO) in the Horse. *American Association of Equine Practitioners*. Acedido a 14 de Janeiro de 2012. Disponível em: [http://www.aaep.org/health\\_articles\\_view.php?print\\_friendly=true&id=349](http://www.aaep.org/health_articles_view.php?print_friendly=true&id=349)

Hutchens, D.E & DiPietro, J.A. (1996). The effect of biweekly treatment with mebendazole on benzimidazole-resistance small strongyles. *Equine Practice*, 18. (2). 10-14.

Hutchinson, G.W., Abba, S.A. & Mftilodze, M.W. (1989). Seasonal translation of equine strongyle infective larvaeto herbage in tropical Australia. *Veterinary Parasitology*, 33. (3-4), 251-263.

Instituto da Conservação e Biodiversidade da Natureza. Revisão do Plano de Ordenamento do Território da Peneda do Gerês. Acedido a 1 de Outubro de 2011. Disponível em [http://portal.icnb.pt/NR/rdonlyres/C22462DB-B240-4332-A4D1-AEEED73C2F88/0/RELATORIO\\_POPNPG.pdf](http://portal.icnb.pt/NR/rdonlyres/C22462DB-B240-4332-A4D1-AEEED73C2F88/0/RELATORIO_POPNPG.pdf)

Instituto de Meterologia de Portugal. Acedido a 3 de Outubro de 2011. Disponivel em: <http://www.meteo.pt/pt/>

Jackson, F. & Waller, P. (2008). Managing refugia. *Tropical biomedicine.*, 25. (1), 34-40.

Kamal, S. M. & El Sayed, K.S. (2006). Immune modulation by helminthic infections: worms and viral infections. *Parasite Immunology*, 28. (10), 483–496.

Kaufmann, J. (1996). *Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual*, Germany: Birkhauser, 444pp.

Kaplan, R.M. (2002). Anthemintic resistance in nemátodes of horses. *Veterinary Research*, 33. (5), 491-507.

Kaplan, R.M. & Matthews, J.B. (2004). Equine cyathostomins. *Veterinary Parasitology*, 125. (1-2), 203-220.

Kaplan, R. M. & Nielsen, M. K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22. (6), 306-310.

Kassai T., (1999). *Veterinary Helminthology* (pp.58). London, Inglaterra: Butterworth Heineman, 260 pp.

Klei, T.R., Chapman, M.R., French, D.D. & Taylor, H.W. (1993). Evaluation of ivermectin at an elevated dose against encysted equine cyathostome larvae. *Veterinary Parasitology*, 47. (1-2), 99-106.

Klei, T.R. & Chapman, M.R. (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Veterinary Parasitology*, 85. (2-3), 123-136.

Kobluk, C.N., Ames, T.R. & Geor, R.J.G (1995). *The Horse diseases & Clinical management*. Diseases of the skin (pp. 552-554). Philadelphia: W.B. Saunders Company, 735

Kórnas, S., Nowosad B., Skalska, M. & Bółoz, T. (2004). Intestinal parasites infection of horses from riding clubs in Kraków area. *Wiad Parazytol.*, 50. (2), 323-7.

Kórnas, S., Gawor, J., Cabaret, J., Molenda, K., Skalska, M. & Nowosad, B. (2009). Morphometric identification of equid cyathostome (Nematoda: Cyathostominae) infective larvae. *Veterinary Parasitology*, 162. (3-4), 290-294.

Kurotaki T., Narayama K., Oyamada T., Yoshikawa H. & Yoshikawa T. (1994). Immunopathological study on equine insect hypersensitivity ("kasen") in Japan. *Journal Comparative Pathology*, 110. (2), 145-152.

Lagares, A. F. B. F. (2008). *Parasitoses de pequenos ruminantes na região da Cova da Beira*. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa- Universidade Técnica de Lisboa, 115 pp.

Langner, K.F.A., Darpel, K.E., Drolet, B.S., Fischer, A., Hampel, S., Heselhaus, J.E., Mellor, P.S., Mertens, P.P.C. & Leibold, W. (2008). Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 122. (1-2), 126-137.

Langner, K. F. A., Jarvis, D. L., Nimtz, M., Heselhaus, J. E., McHolland, L. E., Leibold, W. & Droletd, B.S. (2009). Identification, expression and characterization of a major salivary allergen (Cul s 1) of the biting midge *Culicoides sonorensis* relevant for summer eczema in horses. *International Journal of Parasitology*, 39. (2), 243-250.

- Langrová, I., Jankovská, I., Borovský, M. & Fiala, T. (2003). Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. *Veterinary Medicine*, 48. (1-2), 18-24.
- Laugier-Collobert, C., Hoste, H., Sevin, C., Dorchies, P. (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, 110. (1-2), 77-83.
- Lawrence, D.A, Weigle, W.O. & Spiegelberg, H.L. (1975). Immunoglobulins cytophilic for human lymphocytes, monocytes and neutrophils. *Journal Clinical Investigation*, 55. (2), 368-376.
- Léguillette, R. (2003). Recurrent airway obstruction—heaves. The Veterinary Clinics of North America. *Equine Practice*, 19. (1), 63-86.
- Liccardi, G., D'Amato, G., Walter Canonica, G., Salzillo, A., Piccolo, A. & Passalacqua, G. (2006). Systemic reactions from skin testing: literature review. *Journal Investigation Allergol Clinical Immunology* , 16. (2), 75-78.
- Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A. & Dvojnós, G.M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*, 156. (1-2), 4-161.
- Lind, E.O. & Christensson, D. (2009). Anthelmintic efficacy on *Parascaris equorum* in foals on Swedish studs. *Acta Veterinaria Scandinavica*. Acedido a 29 de Novembro de 2011. Disponível em: <http://www.actavetscand.com/content/51/1/45>
- Lloyd, S. (1998). Is anthelmintic resistance inevitable: back to basics?. *Equine Veterinary Journal*, 30. (4), 280-283.
- Lloyd, D. H, Littlewood, J.D., Craig, J. M. & Thomsett, L. R. (2003). Diagnostic Tests. *Practical Equine Dermatology*, (pp.6-8). Oxford: Inglaterra. Blackwell Publishing company, 136 pp.
- Love, S. & Duncan, J.L. (1992). The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies. *Veterinary Parasitology*, 44. (1-2), 127- 142.
- Lorch, G., Hillier, A., Kwochka, K.W., Saville, W.A. & LeRoy, B.E. (2001). Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with atopic dermatitis or recurrent urticaria. *American Journal of Veterinary Research*, 62. (7), 1051-9.
- Lynch, N.R., Di Prisco-Fuenmayor, M.C. & Soto, J.M. (1983). Diagnosis of atopic conditions in the tropics. *Annals of Allergy*, 51. (5), 547-551.
- Lynch, N. R., Palenque, M., Hagel, I. & Diprisko, M.C. (1993). Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *Journal Allergy Clinical Immunology*. 92, 404–411.

Lynch, N. R., Palenque, M., Hagel, I. & Diprisco, M.C. (1997). Clinical Improvement of Asthma after Anthelmintic Treatment in a Tropical Situation. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine*, 156. (1), 50–54.

Lynch, N.R., Hagel, I.A., Palenque, M.E., Prisco, M.C., Escudero, J. E., Corao, L.A., Sandia, J.A., Ferreira, L.J., Botto, C., Perez, M. & Souef, P.N. (1998). Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment. *The journal of allergy clinical immunology*, 101. (2), 217-221.

Lynch, N. R., Goldblatt, J. & Souëf, P.N.L. (1999). Parasite infections and the risk of asthma and atopy. *Thorax*, 54. (8), 659–660.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H. & Swerczek, T.W. (1988). Oxfendazole: Activity of a two-dose treatment regimen on natural infections of internal parasites of equids, with emphasis on migrating large strongyles in controlled tests in 1986 and 1987. *American Journal Research*, 49. (11), 1923-1927.

Lyons, E.T., Drudge, J.H. & Tolliver, S.C. (2000). Larval cyathostomiasis. *The Veterinary Clinics of North America Equine practice*, 16. (3), 501-513.

Lyons, E.T. & Tolliver, S.C. (2003). Field test data on small strongyles in evaluation of activity of febendazole given once a day for 5 consecutive days to thoroughbred yearlings on two farms in Kentucky in 2002 and 2003. *Parasitology Research*, 91. (4), 312-315.

Madeira de Carvalho, L.M. (2000). Disciplina de parasitologia: notas de apoio às aulas práticas. (pp. 58-88). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa

Madeira de Carvalho, L. (2001). *Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de Doutoramento em Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa- Universidade Técnica de Lisboa, 445 pp.

Madeira de Carvalho, L. M. (2003). Estrongilidoses dos equídeos – aspectos da sua epidemiologia, terapêutica e controlo. *Medicina Veterinária* – publicação semestral da AEFMV, edição n.º 58, pp.6-15.

Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, M.I. & Afonso-Roque, M.M. (2004) – Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos – 1. Género *Cyathostomum*, sensu lato. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 11 (1/2), 21-32.

Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, M.I. & Afonso-Roque, M.M. (2007) - Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 2. Géneros *Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *Craterostomum*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus*, *Strongylus* e *Trichostrongylus*. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 14 (1/2): 23-34.

Madeira de Carvalho, L.M., Gillespie, A.T, Serra, P.M., Bernardo, F.A., Farrim, A.P. & Fazendeiro, I.M. (2007). Eficácia do fungo nemátófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico estrogilidose equina no Ribatejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 102. (563-564), 233-247.

Madeira de Carvalho, L.M. (2008) Importância da resistência aos anti-helmínticos a propósito da “Roundtable Nematode Resistance, Atenas, 11-13 de Maio de 2007”. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 15 (1/2): 79-91.

Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, M.I. & Afonso-Roque, M.M. (2008) - Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrogilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos. 3. Conclusões, perspectivas futuras e proposta de chave de identificação de alguns nemátodes gastrointestinais mais comuns dos equídeos em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 15 (1/2): 57-63.

Madeira de Carvalho, L.M., Oom, M.M., Gomes, J., Fazendeiro, M.I., Afonso-Roque, M.M. (2008) - Estrogilídeos intestinais (Nematoda: Strongylidae) em garranos bravios (*Equus caballus* L., 1758) do Parque Nacional da Peneda Gerês. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 15 (2), 71-78.

Madeira de Carvalho, L.M., Gomes, J., Fazendeiro, M.I., Afonso-Roque, M.M., Oom, M.M. (2011) Estudo epidemiológico do parasitismo por estrogilídeos (Nematoda: Strongylidae) em garranos (*Equus caballus*, L., 1758) do Parque Nacional da Peneda Gerês. *II Jornadas do GTIE, Ponte de Lima, 25 de Junho de 2011. (Poster)*.

Madeira, M.A.V. & Furtado, A.F.A.S. (1984). Os solos formados a partir de rochas graníticas sob clima temperado super-húmido (Parque Nacional da Peneda do Gerês) suas características mais relevantes. *Anais do Instituto Superior de Agronomia*, 41, pp.9-54.

Maizels R.M & Yazdanbakhsh M. (2003). Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nature Reviews Immunology*, 3. (9), 733–744.

Martin, S. (1992). Suivi parasitologique de chevaux de race Camargue dans le cadre d’une étude de croissance comparée entre équins et bovins sur un pâturage camarguais semi-naturel. These pour le Doctorat Vétérinaire, N°92-Tou 3- 4074, Diplôme d’Etat, Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, 97 pp.

Marti, E., Gerber, V., Wilson, A.D., Lavoie, J.P., Horohov, D. , Cramer, R., Lunn, D.P., Antczak, D., Björnsdóttir, S., Björnsdóttir, TS., Cunningham, F., Déer, M., Frey, R., Hamza, E., Horin, P., Heimann, M., Kolm-Stark, G., Olafsdóttir, G., Ramery, E., Russell, C., Schaffartzik, A., Svansson, V., Torsteinsdóttir, S. & Wagner, B. (2008). Report of the 3rd Havemeyer workshop on allergic diseases of the Horse, Hólar, Iceland, June 2007. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 126. (3-4), 351-61

- Martins, I. V. F., Correia, T. R., Souza, C. P., Fernandes, J. I., Sant'anna, F. B. & Scott, F. B. (2001). Frequência de nematóides intestinais de equinos oriundos de apreensão, no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, 10. (1). 37-40. Acedido a 20 de Janeiro de 2012. Disponível em: [http://www.ufrj.br/rbpv/1012001/c10137\\_40.pdf](http://www.ufrj.br/rbpv/1012001/c10137_40.pdf)
- Matthee, S., Krecek, R.C. & Milne, S.A. (2000). Prevalence and biodiversity of helminth parasites in donkeys from South Africa. *Journal of Parasitology*, 86. (4), 756-762.
- Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., Dowdall, S.M.J. & Proudman, C.J (2004). Recent developments in research into the *Cyathostominae* and *Anoplocephala perfoliata*. *Veterinary Research*, 35. (4), 371-381.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O.D. (1974). Early development of and pathology associated with *Strongylus edentatus*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 38. (2), 124-138.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O.D. (1976). *Strongylus vulgaris* in the horse: a review. *Canadian Veterinary Journal*, 17. (6), 150-157.
- McCraw, B.M., Slocombe, J.O.D. (1978). *Strongylus edentatus* development and lesions from ten weeks postinfection to patency. *Canadian Journal Comparative Medicine*, 42. (2), 340-356.
- McCraw, B.M. & Slocombe, J.O.D. (1985). *Strongylus equinus*: development and pathological effects in the equine host. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49. (4), 372-382.
- McKelvie, J., Foster, A.P., Cunningham, F.M. & Hamblin, A.S. (1999). Characterisation of lymphocyte subpopulations in the skin and circulation of horses with sweet itch (*Culicoides* hypersensitivity). *Equine Veterinary Journal*, 31, 466-472.
- Medeiros, D., Rego Silva, A., Rizzo, J.A., Motta, M. E., Bezerra de Oliveira, F.H. & Sarinho, E.S.C. (2006). Nível sérico de IgE total em alergia respiratória: estudo em pacientes com alto risco de infecção por helmintos. *Jornal de Pediatria*, 82. (4), 255- 259.
- The Merck Manual of Diagnostic and Therapy (2011). The Recurrent Airway Obstruction (Heaves, Chronic obstructive pulmonary disease). Acedido a 22 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/121310.htm>
- Mfitylodze, M.W. & Hutchinson, G.W. (1987). Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 23. (1-2), 121-133.
- Mfitylodze, M.W. & Hutchinson, G.W. (1990). Prevalence and abundance of equine strongyles (Nematoda: Strongyloidea) in tropical Australia. *The Journal of Parasitology*, 76. (4), 487-494.

- Molento, M.B. (2005). Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. *Ciência Rural*, 35. (6), 1469-1477.
- Morand, S. & Poulin, R. (1998). Density, body mass and parasite species richness of terrestrial mammals. *Evolutionary Ecology*, 12, 717-727.
- Morán, G., Folch, H., Araya, O., Burgos, R. & Barria, M. (2010). Detection of reaginic antibodies against *Faenia rectivirgula* from the serum of horses affected with Recurrent Airway Obstruction by an in vitro bioassay. *Veterinary Research Communications*, 34. (8), 719-726.
- Moran, G. & Folch, H. (2011). Recurrent airway obstruction in horses – an allergic inflammation: a review. *Veterinari Medecina*, 56. (1), 1-13
- Morariu, S., Darabus, G.H., Oprescu, I., Mederle, N., Ilie, M., Stepanescu, D. & Mihailovici, S. (2008). The cyathostomine larvae pollution degree on pasture from Radimna Village, Caras-severin count. *LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE MEDICINĂ VETERINARĂ*, XLI, 395-401.
- Mota, M.A., Campos, A.K. & Araújo, J.V. (2003). Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 23. (3), 93-100.
- Moura Gomes, J.C.S. (1996). *Bases para a conservação e gestão do garrano (Equus caballus L., 1758) no Parque Nacional da Peneda-Gêres*. Relatório de Estágio Profissionalizantes para obtenção de Licenciatura em Recursos Faunísticos e Ambiente. Departamento de Zoologia e Antropologia Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 166pp.
- Murray, M.J. (2003). Treatment of equine gastrointestinal parasites. *8th Congress on Equine Medicine and Surgery*, Ithaca, USA. (pp. 1-6). Acedido em Março, 17, 2011, disponível em: [http://www.ivis.org/proceedings/Geneva/2003/Murray3/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/proceedings/Geneva/2003/Murray3/chapter_frm.asp?LA=1)
- Neuhans, S., Bruendler, P., Frey, C.F., Gottstein, B., Doherr, M.G. & Gerber, V. (2010). Increased parasite resistance and recurrent airway obstruction in horses of high-prevalence family, *Journal Veterinary Internal Medicine*. 24. (2), 407-413.
- Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J. & Olsen, S.N. (2007). Climate influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *The Veterinary Journal*, 174. (1), 23-32.
- Nielsen, M.K. & Kaplan, R.M. (2008). *Evidence-based equine parasitology: It ain't the 60s anymore*. *Proceedings des 36èmes journées annuelles de l'association vétérinaire équine française - Reims, France* (pp. 10-14). Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/avef/2008/session2/1.pdf>

Nielsen, M.K. (2009). Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences. *Parasites and Vectores*, 2. (2), 1-7.

Nielsen, M.K., Baptiste, K.E., Tolliver, S.C., Collins, S.S. & Lyons, E.T. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Veterinary Parasitology*, 174. (1-2), 77-84.

Nóbrega, D. R. F. (2010). Abordagem proactiva à Terapêutica da Dermatite Atópica Canina. Tese de Mestrado em Clínica Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa- Universidade Técnica de Lisboa, 84 pp.

Ougbourne, C.P. (1975). Epidemiological studies on horses infected with nemátodes of the family Trichonematidae (Witenberg, 1925). *International Journal for Parasitology*, 5. (6), 667-672.

Ougbourne, C.P. & Duncan, J.L. (1985). *Strongylus vulgaris* in the horse: its biology and veterinary importance. A Review. 2<sup>nd</sup> Ed., Commonwealth Agricultural Bureaux, Commonwealth Institute of Parasitology, Miscellaneous publication, N°9, 68 pp.+V.

Oke, S. & White, S.D. (2010). Allergies in horses. *The Horse.com*. Acedido a 15 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.thehorse.com/Free-Reports/View.aspx?n=allergies-in-horses&id=20>

Osterman Lind, E., Höglund, J., Ljungström, B.L., Nilsson, O. & Uggla, A. (1999). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*, 31 (1), 68-72.

Palmer, L.J., Celedón, J.C., Weiss, S.T., Wang, B., Fang, Z. & Xu, X. (2002). *Ascaris lumbricoides* Infection Is Associated with Increased Risk of Childhood Asthma and Atopy in Rural China. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine*, 165. (11), 1489-1493.

Pascoe, R.R.R. & Knottenbelt, D.C. (1999). *Manual of Equine Dermatology*. Contact Hipersensitivity (pp171-173). Hong Kong: W.B Saunders, (pp.290).

Peregrine, A.S., McEwen, B., Bienzle, D., Koch, T.G. & Weese, J.S. (2006). Larval cyathostomiasis in horses in Ontario: an emerging disease? *The Canadian Veterinary Journal*. 47. (1), 80-2.

Pierezan, F., Rissi, D. R., Oliveira Filho, J. C., Lucena, R. B., Tochetto, C., Flores, M. M., Rosa, F. B. & Barros, C. S.L. (2009). Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29. (5), 382-386.



Pook, J.F., Power, M.L., Sangester, N.C, Hodgson, J.L. & Hodgson, D.R. (2002). Evaluation of tests for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Veterinary Parasitology*, 106. (4), 331-343.

Portas, M. (2011). Garranos- Uma Raça Autóctone. *Newsletter*, 3. Disponível em [http://www.alterreal.pt/Newsletter\\_3.pdf](http://www.alterreal.pt/Newsletter_3.pdf)

Reed, M.S. & Bayly, W.M. (1998). *Equine Internal Medicine*. Respiratory System. (pp.258-280). Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 1091 pp.

Reinemeyer, C.R., Smith, S. A., Gabel, A. A. & Herd, R.P. (1984). The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Veterinary Parasitology*. 15. (1), 75-83.

Reinemeyer, C.R. (1986a). Small strongyles- recent advances. *Veterinary Clinic North American Equine Practice*. 2. (29), 281-312.

Reinemeyer, C.R. (1986b). Parasite control recommendations for horses during the first year of life. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners- Focus meeting*. Disponível em [www.ivis.org](http://www.ivis.org).

Reinemeyer C. R. (1992). Equine small strongyles: unanswered questions. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 14, 816-819.

Reinemeyer, C.R., Farley, A. W. & Clymer, B.C. (2003). Comparisons of cyathostome control and selection for benzimidazole resistance using larvicidal regimens of moxidectin gel or febendazole paste. *The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 1. (1), 66-72.

Robisson, N.E. (2001). Recurrent Airway Obstruction (Heaves). International Veterinary Information Service. Acedido a 14 de Janeiro de 2012 Disponível em: [http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/robinson/IVIS.pdf](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/robinson/IVIS.pdf)

Robinson, N.E. (2008), *Current Therapy in Equine Medicine*. The Respiratory System. (pp.431).(4<sup>th</sup> edition). Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 800 pp.

Rodrigues, M.L.A., Anjos, D.H.S, Souto-Maior, M. P., Castro, A. A., Oliveira, C. R. C. & Luque, J.L. (2000). Diversidade das infracomunidades de estrongilídeos do cólon dorsal de *Equus caballus* do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitología al Día*, 24. (3-4), 92-96.

Rolfe, P.F, Dawson, K.L. & Holm-Martin, M. (1998). Efficacy of moxidectin and other anthelmintics against small strongyles in horses. *Veterinary Journal*, 76. (5), 332-334.

Rose, R.J. & Hodgson, D.R. (2000). *Manual of Equine Practice. Dermatology*. (pp.337-339). (2<sup>th</sup> edition). Pennsylvania, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 531 pp.

Sánchez-Andrade, R., Francisco, I., Cortñas, F.J., Sánchez, J.A., Francisco, R., Dacal, V., Arias, M., Suárez, J.L., Morondo, P., Valero, R., López-Arellano, M.E., Mendoza de Gives, P. & Paz-Silva, A. (2009). Análisis *in vitro* del hongo *Duddingtonia flagrans* para el control biológico de estróngilos de équidos. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 16 (1/2), 60.

Sapkota, R.C. (2009). Prevalence of Helminths Parasites in Mules of Brick Kiln of Lalitpur District. *Animal Nepal*. 12pp. Disponível em: <http://www.animalnepal.org/documents/donkey/research/mule.pdf>

Scharrenberg, A., Gerber, V., Swinburne, J., Klukowska-Rotzler, J., Laumen, E. & Marti, E. (2009). IgE, IgGa, IgGb and IgGT Antibody Levels in Sera of two sires affected with equine recurrent airway obstruction. *Animal Genetics*, 41. (2), 131-137.

Schenck, S. & Pramer, D. (1975). The Effects of Volatile Compounds from Nematodes on Trap Formation by a Nematode-Trapping Fungus. *Applied Microbiology*, 30. (3), 496-497.

Scott, D.W. & Miller, W.H. (2003). Skin immune system and allergic skin diseases. *Equine Dermatology*. (pp.448-467). St. Luis, Missouri. Elsevier Science, 823 pp.

Smith, B.V. (1990). Diseases of the respiratory system. *Large Animal Internal Medicine*. (pp.594-597). (2<sup>a</sup> edição). Missouri: Mosby Company, 2039 pp.

Stancampiano, L., Mughini Gras, L. & Poglayen, G. (2010). Spatial niche competition among helminth parasites in horse's large Intestine. *Veterinary Parasitology*, 170. (1-2), 88-95.

Steinbach, T., Bauer, C., Sasse, H., Baumga'rtner, W., Rey-Moreno, C., Hermosilla, C., Made Damriyasa, I. & Zahner, H. (2006). Small strongyle infection: consequences of larvicidal treatment of horses with fenbendazole and moxidectin, *Veterinary Parasitology*, 139. (1-3), 115-131.

Stems, K., Shaw, D.J., Deprez, P. & Vercruysse, J. (1999). Diagnosis of larval cyathostomiasis in horses in Belgium. *Veterinary Record*. 144. (24), 665-668.

Stromberg, B.E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*, 72, 247-264.

Soulsby, E.J.L. (1986). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 4<sup>th</sup> Ed., Baillière Tindall, London, G.B., 809 pp.

Soulsby, L. (2007). New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: The role of refugia. *The Veterinary Journal*, 174. (1), 6-7.

Sorrell, M. S., Fish, R. E. & Taylor, K. H. (2010). Pediculosis in Two Research Ponies (*Equus caballus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 49. (4), 487–490.

Tapada da Ajuda- Vegetação da Tapada da Ajuda. Acedido a 26 de Outubro de 2011. Disponível em: [http://www.isa.utl.pt/tapada/2\\_vegetacao.htm](http://www.isa.utl.pt/tapada/2_vegetacao.htm)

Tamzali, Y. & Birague, M. (2006). Clinical signs, diagnosis and prognosis in equids suffering from equine Cyathostomoses. Acedido a 1 de Fevereiro de 2012, disponível em: <http://www.ivos.org/proceedings/weva/2006/73.pdf?LA=1> com a permissão de WEVA, 259-261 pp..

Tarazona Vilas, J.M. (1999). Estrongilidosis causadas por grandes y pequeños estrongilos. In M. Cordero del Campillo, F. A. Rojo Vázquez, A.R. Martines Fernández, C.Sánchez Acedo, S. Hernández Rodríguez, I. Navarrete López-Cozar, P. Díez Baños, H. Quiroz Romero & M. Carvalho Varela, *Parasitología Veterinária*. (pp.545-560). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.

Tilley, P. (2011). *Contribution to the staging and immunological study of equine recurrent airway obstruction (RAO)*. Tese de Doutoramento em Clínica. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa- Universidade Técnica de Lisboa, 339 pp.

Tilley, P., Sales Luis, J.P. & Branco Ferreira, M. (2010). Testes cutaneous por pica (TCP) na obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) equina. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 18. (6), 561-584.

Tilley, P., Sales Luis, J.P. & Branco Ferreira, M. (2011). Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO). *Research in Veterinary Science*, 167-175.

Tizard, I.R. (2002). *Imunologia veterinária-uma introdução*. (6ª edição). São Paulo: Editora Roca LTDA, 544 pp.

Tolliver, S.C., Lyons, E.T. & Drudge, J.H. (1987). Prevalence of internal parasites in horses in critical tests of activity of parasiticides over a 28-year period (1956-1983) in Kentucky. *Veterinary Parasitology*, 23. (3-4). 273-84.

Tumova, P. & Jahn, P. (2009). Inflammatory Airway Disease- Clinical Outcome in Twelve Horses. *World Equine Airways Symposium (WEAS 09)*

Turgut, K. & Sasse, H. (1989). Influence of clenbuterol on mucociliary transport in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Record*. 12. (125), 526-530.

Ueno, H. & Gutierrez, V.C. (1983). *Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes*. Porto Alegre, Brasil: Japan International Cooperation Agency.

Uhlinger, C.A. (2007). Evidence-based parasitology in horses. *Veterinary Clinical Equine*. 23. (2), 509-517.

Upjohn, M.M, Shipton, K., Leretholi, Attwood, G. & Verheyen, K.L.P. (2010). Coprological prevalence and intensity of helminth infection in working horses in Lesotho. *Tropical Health Production*, 42. (8), 1655-1661.

Urquhart, G.M., Amour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). Principles of Classification. *Veterinary Parasitology*, pp.3-42. (2ª edição). Oxford, UK: Blackwell Publishing.

van den Biggelaar, A. H., van Ree, R., Rodrigues, L.C. , Lel, B., Deelder, A.M., Kremsner, P.G., Yazdanbakhsh, M. (2000). Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 356, 1723–1727.

van der Hagen, A., Griot-Wenk, M., Welle, M., Busato, A., von Tscherner, Zurbriggen, C. & Marti, E. (2001). Immunoglobulin-E-bearing cells in skin biopsies of horses with insect bite hypersensitivity. *Equine Veterinary Journal*, 33. (7), 699-706.

van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. S., van Poppel, M., Raat, I. J., van den Boom, R. & Savelkoul, H. F.J. (2009a). Intradermal testing of horses with and without insect bite hypersensitivity in the Netherlands using an extract of native *Culicoides* species. *Veterinary Dermatology*, 20, 607–614.

van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. S. (2009b). The spread of *Culicoides* spp. in the Netherlands - The incidence of Insect Bite Hypersensitivity as sentinel for African Horse Sickness. Acedido a 28 de Novembro de 2011. Disponível em: [http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:jEG8Cs36qQ4J:scholar.google.com/+The+spread+of+Culicoides+spp.+in+the+Netherlands+van+Oldruitenborgh-Oosterbaan&hl=pt-PT&as\\_sdt=0&as\\_vis=1](http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:jEG8Cs36qQ4J:scholar.google.com/+The+spread+of+Culicoides+spp.+in+the+Netherlands+van+Oldruitenborgh-Oosterbaan&hl=pt-PT&as_sdt=0&as_vis=1)

Vasconcelos, T. (2011). Index seminum pro mutua commutatione offert mmxi-Banco de sementes parque botânico da Tapada da Ajuda Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica de Lisboa. Acedido a 20 de Outubro de 2011. Disponível em: [http://www.jbotanicos.org/IMG/pdf/BS\\_2011.pdf](http://www.jbotanicos.org/IMG/pdf/BS_2011.pdf)

Veenhuis, M., Nordbring-Hertz, B. & Harder, W.M. (1985) An electron-microscopical analysis of capture and initial stages of penetration of nemátodes by *Arthrobotrys oligospora*. *Antonie van Leeuwenhoek* , 51, 385-398.

von Samson-Himmelstjerna, G., Traversa, D., Demeler, J., Rohn, K., Milillo, P., Schurmann, S., Lia, R., Perrucci, S., di Regalbono, A.F., Beraldo, P., Barnes, H., Cobb, R. & Boeckh, A. (2009). Effects of worm control practices

examined by a combined faecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasite & Vectors*, 2 (Suppl 2), S3 1-7.

Wagner, B., Miller, W.H., Morgan, E.E., Hillegas, J.M., Erb, H.N., Leibold, W. & Antczak, D.F. (2006). IgE and IgG antibodies in skin allergy of the horse. *Veterinary Research*, 37. (6), 813–825.

West, C. (2009). Deworming- To Rotate or not to Rotate? *The Horse.com*. Article 13695, 1-4.

Wescott, R.B. (1986). Anthelmintics for Horses. Parasitology..? *Proceedings of the Sixth International Congress of Parasitology*, 503-510.

Wheatherunderground. Acedido a 5 de junho de 2012. Disponível em: <http://portuguese.wunderground.com/>

Revisão do Plano de Ordenamento do Território da Peneda do Gerês- 3ª Fase-Proposta. Relatório, 65pp. Acedido a 27 de Outubro de 201. Acedido a 1 de Outubro. Disponível em: [http://portal.icnb.pt/NR/rdonlyres/C22462DB-B240-4332-A4D1-AEEED73C2F88/0/RELATORIO\\_POPNPG.pdf](http://portal.icnb.pt/NR/rdonlyres/C22462DB-B240-4332-A4D1-AEEED73C2F88/0/RELATORIO_POPNPG.pdf)

White, S.D. (2005). Advances in Equine Atopic Dermatitis, Serologic and Intradermal Allergy Testing. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4. (4), 311-313.

White, S.D. (2011). Differential diagnosis of the pruritic horse: allergies, urticaria and ectoparasites: Part I. in 63<sup>rd</sup> CVMA CONVENTION. Scientific Presentations. World Trade & Convention center. Nova Scotia, Canada. Acedido Novembro 25 de 2011. Disponível em [http://canadianveterinarians.net/SpeakerNotes2011/HTML/equine/equine\\_white\\_01-differential-diagnosis-1.html](http://canadianveterinarians.net/SpeakerNotes2011/HTML/equine/equine_white_01-differential-diagnosis-1.html)

Wohlleben, G., Trujillo, C., Müller, J., Ritze, Y., Grunewald, S., Tatsch, U. & Erb, K.J. (2004). Helminth infection modulates the development of allergen-induced airway inflammation. *International Immunology*. 16. (4). 585–596

Wolstenholme, A.J., Fairweather, I., Prichard, R., Samson-Himmelstjerna, G. & Sangster, N.C. (2004). Drug resistance in veterinary helminthes, *Trends in Parasitology*, 20. (10), 469-476.

Zajac, A.M. & Conboy, G.A. (2006), *Veterinary Clinical Parasitology*, 7ª edição, Blackwell Publishing, 305 pp.

**Anexo A:** Fotografias originais de L3 (Ampliação 100X originais)



**Fotografia 1. *Cyathostomum A* (Ampliação de 100x)**



**Fotografia 2. *Cyathostomum C* (Ampliação de 100x)**



**Fotografia 4. *Poteriostomum* spp. (Ampliação de 100x)**





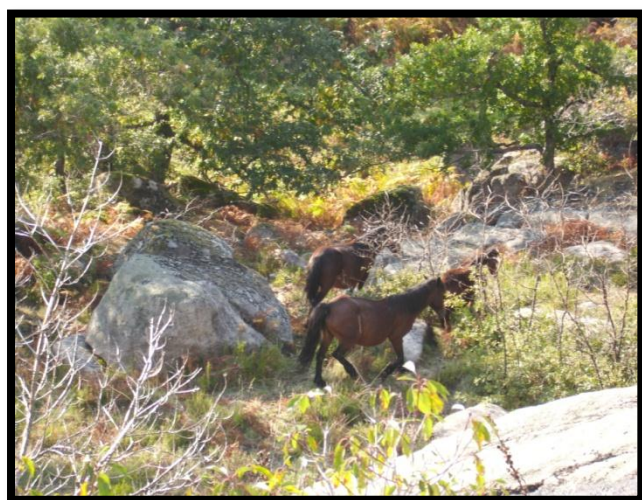
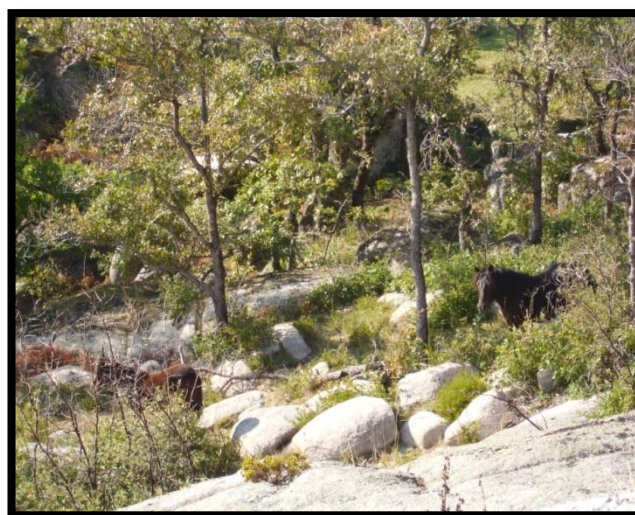
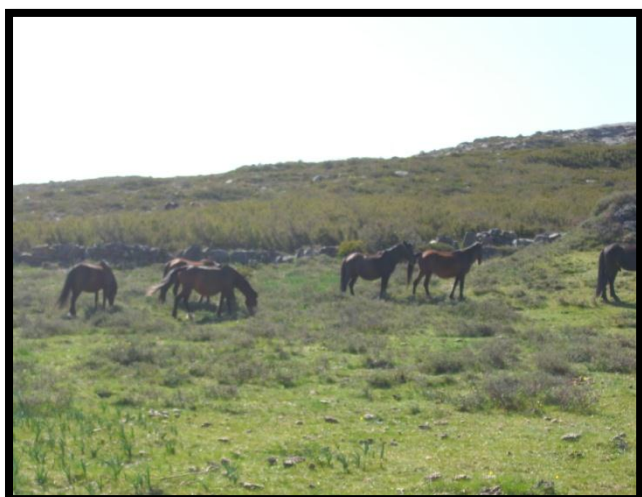
**Fotografia 3. *Strongylus vulgaris* (Ampliação de 100x)**



**Fotografia 5. *Triodontophorus* spp. (Ampliação de 100x)**



**Anexo B:** Fotografias de Garranos nas zonas de pastoreio no Gerês e salamandra.





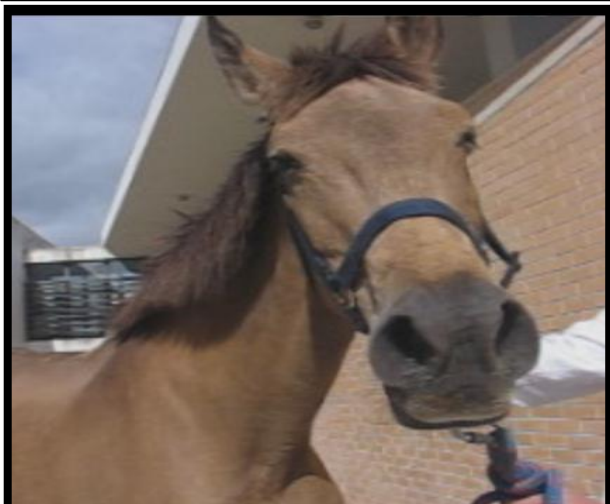
**Anexo C-** Equídeos com sinais clínicos de dermatite atópica, ORVA e Hipersensibilidade à picada de insectos.



Tronco de cavalo com alopecia, crostas e escoriações, típico de dermatite atópica (retirada do *Practical Equine Dermatology 2003*)



Alopecia provocada por auto-traumatismo (cedida pela Professora Doutora Paula Tilley)



Narinas dilatadas (cedida pela Professora Doutora Paula Tilley)



Brônquios dilatados (cedida pela Professora Doutora Paula Tilley)

**Anexo D:** Fotos originais de mosquitos de *Culicoides nubeculosus* e *Culicoides puncticollis*.



Foto original da cabeça de um mosquito de *Culicoides puncticollis* (ampliação 50x)

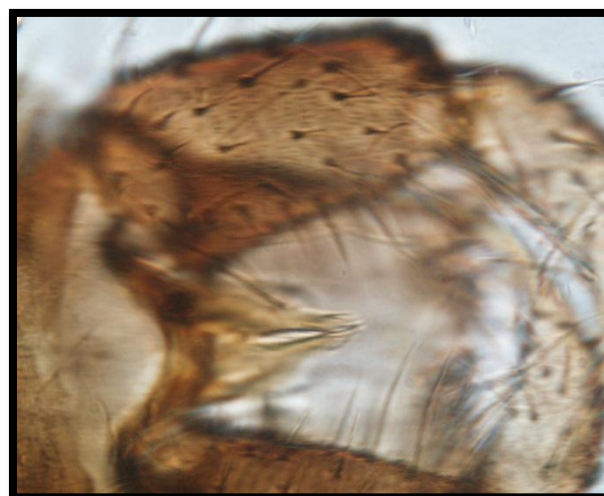


Foto original do órgão masculino de um mosquito de *Culicoides puncticollis* (ampliação 100x)



Foto original da asa de um mosquito de *Culicoides puncticollis* (ampliação 50x)



Foto original do último segmento do corpo de uma fêmea de *Culicoides puncticollis* (ampliação 100x)

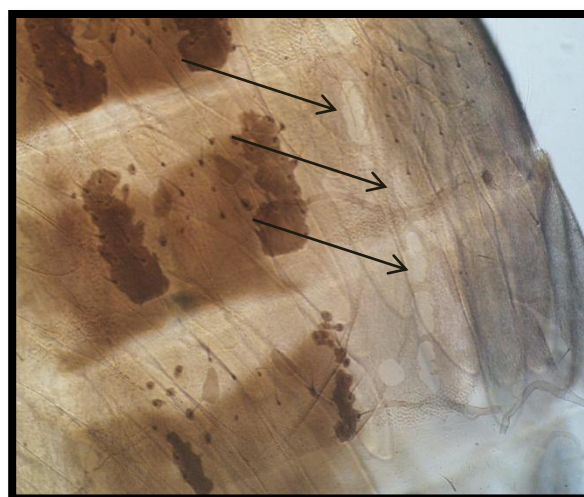


Foto original de ovos de uma fêmea de mosquito *Culicoides nubeculosus* (setas apontam para ovos) (ampliação 100x)

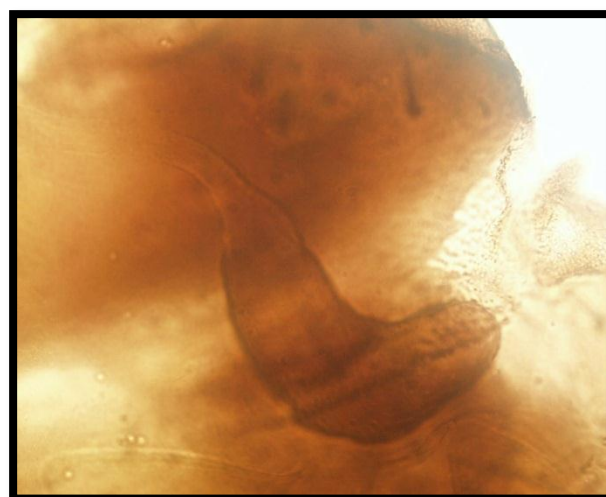


Foto original da espermateca de uma fêmea de mosquito de *Culicoides nubeculosus* (ampliação 100x)